

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1943

THESE

N°

376

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

par

Bernard SUREAU

Né le 2 Février 1914, à Senonches (Eure-et-Loir)

Présentée et soutenue publiquement le 19 ..

24 MARS 1943

L'IMMUNITÉ DES FIEVRES
EXANTHÉMATIQUES

Travail du Laboratoire du Docteur GIROUD
Institut Pasteur de Paris

Président : M. LEMIERRE, Professeur.

PARIS
IMPRIMERIE R. FOULON
29, Rue Deparcieux, 29
1943

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Nom du Candidat : **SUREAU.**

Prénom : **Bernard.**

Date de soutenance :

Numéro d'ordre :

(Ces deux mentions seront complétées par le Service de la Bibliothèque)

SUREAU (Bernard). — L'Immunité des fièvres exanthématiques. (Travail du Laboratoire du Docteur Giroud, Institut Pasteur de Paris). — Paris, Imp. R. Foulon, 1943, in-8°, 108 p., 2 fig.

(Thèse Médec. (Et.), Paris 1943, N°)

SUREAU (Bernard). — L'Immunité des fièvres exanthématiques. Travail du Laboratoire du Docteur Giroud, Institut Pasteur de Paris). — Paris, Imp. R. Foulon, 1943, in-8°, 108 p., 2 fig.

(Thèse Médec. (Et.), Paris 1943, N°)

SUREAU (Bernard). — L'Immunité des fièvres exanthématiques). Travail du Laboratoire du Docteur Giroud, Institut Pasteur de Paris). — Paris, Imp. R. Foulon, 1943, in-8°, 108 p., 2 fig.

(Thèse Médec. (Et.), Paris 1943, N°)

SUREAU (Bernard). — L'Immunité des fièvres exanthématiques). Travail du Laboratoire du Docteur Giroud, Institut Pasteur de Paris). — Paris, Imp. R. Foulon, 1943, in-8°, 108 p., 2 fig.

(Thèse Médec. (Et.), Paris 1943, N°)

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1943

THESE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

par

Bernard SUREAU

Né le 2 Février 1914, à Senonches (Eure-et-Loir)

Présentée et soutenue publiquement le 19

L'IMMUNITÉ DES FIEVRES
EXANTHÉMATIQUES

Travail du Laboratoire du Docteur GIROUD

Institut Pasteur de Paris

Président : M. LEMIERRE. Professeur.

PARIS

IMPRIMERIE R. FOULON

29, Rue Deparcieux, 29

1943



LE DOYEN BAUDOUIN

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Bactériologie	GASTINEL.
Parasitologie et histoire naturelle médicale ..	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	CHABROL
Pathologie chirurgicale	PETIT-DUTAILLIS.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	AUBERTIN.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	DUVOIR.
Histoire de la médecine et de la chirurgie ..	LIAN.
Pathologie expérimentale comparée	Henri BENARD.
Hydrologie, thérapeutique et climatologie	CHIRAY.
Clinique médicale	ABRAMI.
	FIESSINGER.
	HARVIER.
	P.-VALLERY-RADOT.
Hygiène et clinique de la première enfance ..	CATHALA.
Clinique des maladies des enfants	Robert DEBRE.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	LEVY-VALENSI
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Cliniques des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CADENAT.
Clinique chirurgicale	MONDOR.
	QUENU.
	BROCQ.
Clinique ophtalmologique	VELTER.
Clinique urologique	CHEVASSU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements	LEVY-SOLAL.
	PORTES.
Clinique gynécologique	MOCQUOT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie ..	LEVEUF.
Clinique thérapeutique médicale	LOEPER.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	SENEQUE.
Clinique propédeutique	M. VILLARET.
Clinique de la Tuberculose	TROISIER.
Clinique chirurgicale orthopédique	MATHIEU.
Clinique de cardiologie	DONZELOT.
Clinique de neuro-chirurgie	Clavis VINCENT
Assistance Médico-sociale	N...
Professeurs sans chaire	DOGNON.
	HAZARD.
	JAYLE.
	OLIVIER.
	VERNE.

II. — AGREGES EN EXERCICE

MM.			MM.		
AMELINE	Pathologie	chirurgicale.	DE GENNES	Pathologie	médicale.
BARIETY	Pathologie	médicale.	JOANNON	Hygiène	
BESANÇON Justin.	Hydrologie.		LACOMME	Obstétrique.	
BONNET	Bactériologie		LANTUEJOUL	Obstétrique.	
BOULIN	Pathologie	médicale.	LAVIER	Parasitologie.	
BROUET	Pathologie	médicale.	LELONG	Pathologie	médicale.
BULLIARD	Histologie.		LEMAIRE	Pathologie	expérimentale.
CACHERA	Pathologie	médicale.	LENEGRE	Pathologie	médicale.
CORDIER	Anatomie.		Mlle J. LEVY	Pharmacologie.	
COSTE	Pathologie	médicale.	MARCHAL	Pathologie	médicale.
JOUVELAIRE (Roger)	Urologie.		MENEGAUX	Pathologie	chirurgicale.
DELARUE	Anatomie	pathologique.	MOLLARET	Pathologie	médicale.
DELAY	Pathologie	médicale.	MOUQUIN	Pathologie	médicale.
DESGREZ (H.)	Physique.		PATIEL	Pathologie	chirurgicale.
DESOILLE	— Médecine légale.		RENARD	Ophthalmologie.	
DIGONNET	Obstétrique.		RICHET	Physiologie.	
DOGNON	Physique.		SICARD	Pathologie	chirurgicale.
FEVRE	Pathologie	chirurgicale.	SOULIE	Pathologie	médicale.
FUNCK-BRENTANO	Pathologie	chirurgicale.	SUREAU	Obstétrique.	
GALLIARD	Parasitologie.		TURPIN	Pathologie	médicale.
GARCIN	Pathologie	médicale.	WILMOTH	Pathologie	chirurgicale.
Mlle GAUTHIER-VILLARS	Anatomie	pathologique.			

III. — AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.		MM.	
ALGLAVE	Pathologie	HUGUENIN	Anatomie Pathologique.
CHAILLEY-BERT ..	Physiologie.	LE LORIER	— Obstétrique.
GUENIOT	Obstétrique.	NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.
FEITZ-BOYER	Pathologie	PIEDELIEVRE ...	Médecine légale.
	chirurgicale.	VAUDESCAL	Obstétrique.

IV. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.		MM.	
ALAJOUANINE	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgi- cale.
BRULE		GATELLIER ...	
LAROCHE Guy		de GAUDART	
MOREAU		d'ALLAINES	
SEZARY		MOULONGUET	
		MOURE	

MM.	
ECALLE	} Clinique obstétricale
VIGNES	

V. — CHARGES DE COURS

MM.	
N...	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
DECHAUME	Stomatologie.
N...	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecoie a arrêté que les options émises dans des dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA FEMME

*Une pénible maladie nous sépare
depuis de longs mois. Je les ai con-
sacrés à la préparation d'un foyer
plus beau, et plein de tendresse.*

A MA MERE

*Faible témoignage de ma profon-
de gratitude pour son dévouement
inlassable et sa tendresse immense.*

A MON PERE

*Sa vie, toute de travail et de bon-
té, sera toujours pour moi un in-
comparable exemple dont je veux
être digne.*

A MA SŒUR

A MON BEAU-PERE
LE DOCTEUR A. LAFOND

Dès le début de mes études il m'a prodigué les conseils et les encouragements les plus précieux. Sa conscience professionnelle est pour moi un idéal dont je m'efforcerai d'être digne.

A TOUS LES MIENS

A MONSIEUR L'ABBÉ E. COMIN

Il m'a suivi pas à pas tout au long de mes études; il m'a acheminé vers le plus bel idéal, qui est le sien, le don de soi-même à ceux qui souffrent.

A MON PRESIDENT DE THESE
MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LEMIERRE
Professeur de Clinique des Maladies Infectieuses
Médecin de l'Hôpital Claude-Bernard
Membre de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'Honneur

Il s'est toujours beaucoup intéressé aux recherches sur le typhus, et a su, grâce à sa haute compétence, les appliquer à la clinique; avec un dévouement admirable il s'est mis au service de nos prisonniers.

Je le remercie du grand honneur qu'il m'a fait de vouloir bien accepter la présidence de cette thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. TREFOUEL

Directeur de l'Institut Pasteur
Membre de l'Académie de Médecine

J'ai été très touché de sa grande délicatesse et de sa compréhension à mon égard. Qu'il veuille bien trouver ici le modeste témoignage de ma reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR R. MARTIN

Médecin-Chef de l'Hôpital de l'Institut Pasteur

Il m'a appris à connaître et à aimer l'Institut Pasteur; au cours de la vie quotidienne de l'hôpital, sa science clinique et son amicale bienveillance me furent précieuses à tant de titres.

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. GIROUD

Chef du Service du Typhus à l'Institut Pasteur

C'est à lui que je dois ce que j'ai appris du typhus; il m'a inspiré ce travail et m'a fait bénéficier de ses recherches. J'ai pu apprécier ses hautes connaissances et sa parfaite honnêteté scientifique.

A MES MAÎTRES DES HOPITAUX DE LYON
ET DE PARIS

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. DUMAS,
MONSIEUR LE PROFESSEUR P. ROCHET,
MONSIEUR LE PROFESSEUR J. CIBERT,
MONSIEUR LE PROFESSEUR MOURIQUAND,
MONSIEUR LE DOCTEUR R. GAYET,
MONSIEUR LE PROFESSEUR F. LEMAITRE.

Hôpitaux militaires

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ GABRIELLE,
MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL HUGUONOT,
MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL SABY.

Laboratoires

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ J. ENSELME,
MONSIEUR LE PROFESSEUR MACHEBŒUF,
MONSIEUR LE DOCTEUR A. BONNEFOI.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. VAUDREMER

*Il m'a dirigé vers le laboratoire;
son grand enthousiasme restera
pour moi un exemple.*

A MON AMI LE DOCTEUR A. DESJARDIN

En souvenir de notre vieille amitié.

A MES CAMARADES DU SERVICE DE SANTE
MILITAIRE

A MES AMIS DE L'INTERNAT
DE L'HOPITAL DE L'INSTITUT PASTEUR

A MES CAMARADES DE LA COMPAGNIE 43/2

A LA MEMOIRE DE MES CAMARADES MORTS
POUR LA FRANCE

INTRODUCTION

Il est classique de dire qu'un malade guéri de typhus est vacciné, et qu'il est, par conséquent, à l'abri d'une nouvelle atteinte. C'est pourquoi on emploie de préférence, pour l'épouillage et pour le dépistage des cas de typhus, des anciens typhiques. Dans les laboratoires où l'on élève des poux infectés, ces poux sont nourris sur des sujets immunisés par une affection antérieure.

En fait, cet adage demeure vrai ; toute atteinte de typhus laisse derrière elle un degré plus ou moins grand d'immunité. Mais au fur et à mesure que l'étude du typhus est sortie des cadres de la clinique, et que les techniques de laboratoire se sont perfectionnées, on a appris à dépister des atteintes autrefois méconnues ; on a pu constater des récidives plus ou moins discrètes, qui ne se trahissent parfois que par des affections inapparentes ou des formes liminaires difficiles à déceler et cependant extrêmement importantes.

Toutefois, les observations humaines n'apportent pas suffisamment d'éléments pour résoudre le problème de l'immunité. Aussi s'est-on adressé aux animaux, en particulier aux singes et aux cobayes et plus récemment aux souris et aux lapins pour compléter les données recueillies sur l'homme par l'expérimentation. Grâce à ces méthodes, Charles NICOLLE (118) a pu constater que de façon presque constante une première atteinte de typhus, même inapparent, laisse à sa suite une immunité et que presque toujours la durée de cette immunité par première atteinte est d'autant plus longue que cette at-

teinte a été plus grave. Les infections inapparentes ou liminaires confèrent ordinairement une immunité d'une durée plus courte que celle qui suit les infections à symptômes. La durée de cette immunité est très variable, pouvant durer de quelques semaines à plusieurs années.

Ces notions permettent de comprendre la marche des épidémies chez l'homme. On a souvent remarqué que le typhus de l'enfant est bénin. Dans les pays où le typhus sévit à l'état endémique l'enfant fait presque fatalement une affection qui reste bénigne, ou inapparente (le typhus se comporte dans ces pays comme en France la rougeole ou la scarlatine); arrivé à l'âge adulte, lorsque son immunité a diminué ou disparu, il subit une nouvelle atteinte, plus grave, qui le met à l'abri jusqu'à la fin de sa vie.

C'est ainsi que l'on peut par exemple expliquer les constatations de ZIMMERMANN (167) en Pologne. La maladie frappe avec prédilection les sujets âgés de 16 à 20 ans (25 % des malades), les plus vieux paraissant immunisés.

Avant d'aborder l'étude de l'immunité dans les fièvres exanthématiques, il est nécessaire de connaître les moyens d'investigation dont nous disposons. Il en est de deux sortes; les uns se pratiquent *in vitro*, les autres sur l'homme ou sur l'animal. Parmi les premiers deux sont importants; la réaction de Weil et Félix, basée sur l'agglutination des différentes souches de *Proteus X* par le sérum du sujet étudié, et l'agglutination des rickettsies, connue sous le nom de réaction de Weigl. Nous étudierons tout particulièrement, parmi les tests *in vivo*, le test de séro-protection culanée de Paul GIROUD, qui permet de mettre en évidence le pouvoir neutralisant d'un tissu vis-à-vis d'une suspension de rickettsies, et de doser ce pouvoir neutralisant.

L'immunité peut revêtir différents aspects selon les maladies; elle peut être due à la persistance de germes

vivants dans l'organisme — c'est la prémunition — ou à la présence d'anticorps — c'est l'immunité vraie.

Après un typhus, le sujet qui vient d'être infecté présente une immunité vraie due aux anticorps, la présence continue du virus permettant le renouvellement de ces anticorps.

Une notion récente, celle du terrain au cours des maladies microbiennes, joue un rôle très important dans l'épidémiologie des rickettsies, ainsi que Paul GIROUD l'a bien mis en évidence.

Comment s'acquiert naturellement l'immunité dans les fièvres exanthématiques ? Nous discuterons les immunités naturelles, de race, de naissance, et nous étudierons les modes d'établissement de l'immunité : maladie vraie, maladie bénigne, maladie inapparente.

Munis de ces connaissances, les expérimentateurs ont tenté de mettre au point un mode d'immunisation artificielle, par vaccins. Par quel moyen obtenir une suspension de rickettsies suffisamment riche, alors que ces germes ne poussent pas in vitro ? Il a fallu rechercher des animaux sensibles aux virus typhiques ; mais encore fallait-il trouver dans l'organisme de ces animaux des tissus où les germes se développent en abondance : ces recherches ont nécessité l'étude de l'immunité locale, étude d'ailleurs nécessaire pour préciser les modes de contamination par les virus des fièvres exanthématiques.

Nous avons parlé jusqu'ici du typhus sans faire de distinctions. Le typhus ou plus exactement les rickettsioses, comprennent tout un ensemble de maladies différentes, que l'on a pu, pour celles qui atteignent l'homme, classer en plusieurs groupes ayant chacun leur individualité, leurs caractères propres et leur immunologie particulière. Cette classification est basée sur des expériences d'immunité croisée, autant que sur des différences de symptomatologie et d'agents porteurs du virus.

MALADIES	AGENT	VECTEUR	RÉSERVOIR	IMMUN. CROISÉE	RÉACTION W.F.
Groupe I : TYPHUS EPIDEMIQUE					
a) Typhus exanthématique	Rickettsia prowazeki	Pédiculus humanus	Homme Pou de l'Homme	Avec les groupes I b et II	OX 19 +++ OX 2 ++ OX K —
b) Maladie de Brill	id.	id.	Homme ? Rat ?	Avec les groupes I et II	OX 19 +++ OX 2 ++ OX K —
Groupe II : TYPHUS ENDEMIQUE					
Typhus murin	R. mooseri	Xenopsylla cheopis	Rats et souris	Avec le groupe I	OX 19 +++ OX 2 ++/± OX K ±/—
Groupe III : FIEVRE POURPREE DES MONTAGNES ROCHEUSES (Rocky Mountains Spotted Fever. — R. M. S. F.)					
a) R. M. S. F. Type Ouest	R. rickettsi	Dermacentor andersoni	Rongeurs sauvages	Avec les groupes III b et c; III d ?	OX 19 + OX 2 + OX K +
b) R. M. S. F. Type Est Fièvre de Minnesota	id.	Dermacentor variabilis	id. Ochters et moutons	Avec les groupes III b et c; III d ?	OX 19 + OX 2 + OX K +
c) Fièvre de Sao-Paulo	R. brasiliensis	Amblyomma cajennense	Rats	Avec les groupes III a et b	OX 19 +++ OX 2 + OX K +
d) Fièvre boutonneuse	R. conori	Rhipicephalus sanguineus	Chien	Avec les groupes III a et b; III c ?	OX 19 +/— OX 2 +/— OX K +/—

sud-africain à tiques	var ?	hebraeum	I et II ?	OX 2 + OX K + OX 19 —
f) Typhus de l'Inde	id.	Tique	?	
Groupe IV : GROUPE TSUTSUGAMUSHI				
a) Fièvre fluviale du Japon Fièvre d'Australie	R. orientalis	Larves de trombicula akamushi	Avec le groupe IV c.	OX 19 — OX 2 — OX K +/ +++
b) Pseudo-typhus de Schuffner	id.	Trombicula delhiensis	?	OX 19 — OX 2 — OX K +/ +++
c) Typhus de Malacca	id.	Trombicula delhiensis et hyatoma egypti	Avec le groupe IV a	OX 19 — OX 2 — OX K +/ +++
Groupe V : FIEVRE DES TRANCHEES				
Fièvre des tranchées	R. quintana (R. weigli)	Pou	?	?
Groupe VI : FIEVRE Q.				
Fièvre Q.	R. burneti	Tiques	?	?

OTTO et WOHLRAB (135) distinguent quatre groupes de fièvres exanthématiques :

1°) Le typhus épidémique, avec le typhus exanthématique et la maladie de Brill;

2°) Le typhus endémique ou murin;

3°) Le groupe des fièvres tachetées des Montagnes-Rocheuses, qui comprend les fièvres tachetées, types Ouest et Est, la fièvre de Sao-Paulo, la fièvre boutonneuse, les fièvres à tiques de l'Afrique du Sud et des Indes;

4°) Le groupe de tsutsugamushi avec la fièvre fluviale du Japon, le typhus de SCHUFFNER et le typhus de Malacca.

A cette classification il convient d'ajouter deux rickettsioses comme l'a fait MURGATROYD (113).

5°) La fièvre des tranchées;

6°) La fièvre Q.

En somme, le groupe des fièvres exanthématiques constitue une vaste famille clinique dans laquelle la tendance à la multiplicité des types confirme qu'il s'agit d'un groupe dont l'origine remonte aux temps les plus reculés.

Aussi Charles NICOLLE (117) pouvait-il constater entre les agents pathogènes des typhus une communauté d'antigènes que les réactions sérologiques et la méthode des immunités croisées départage difficilement.

Nous aborderons enfin le problème de la sérothérapie et de la vaccinothérapie aux cours des fièvres exanthématiques. La sérothérapie jusqu'ici ne dispose que du sérum de convalescent dont l'efficacité d'ailleurs est plus préventive que curative. Divers sérums n'ont pas donné de résultats ; d'autres sont actuellement à l'étude ; ils semblent plus actifs.

La vaccination, par contre, après s'être heurtée à de nombreuses difficultés techniques, la principale étant

d'obtenir du virus en quantité suffisante, a fait un grand pas et est devenue parfaitement efficace depuis que l'on a réussi à cultiver les rickettsies sur poumons de souris et de lapins, et que l'on a mis au point le passage du virus de lapin à lapin.

PREMIERE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

MÉTHODES D'APPRECIATION DE L'IMMUNITÉ

Seule la résistance à une nouvelle infection constitue la preuve formelle de la présence des anticorps du typhus exanthématique dans l'organisme d'un sujet, et de son immunité. Par ailleurs, « l'identification absolue d'une infection ne peut être faite qu'en isolant le virus et en le comparant à des souches connues conservées au laboratoire » (74).

Chez l'animal, la meilleure façon de juger de son immunité est donc de le réinfecter, expérimentalement, puis d'isoler la souche de cette nouvelle infection. Cette façon d'opérer est longue et difficile. D'autre part, chez l'homme, elle n'est pas praticable. Aussi a-t-on étudié et mis au point différents tests d'appréciation de l'immunité de technique simple et rapide soit *in vitro*, soit *in vivo*.

A) TESTS D'IMMUNITÉ IN VITRO

1°) *Réaction de Weil-Félix.*

En septembre 1915, à l'est de la Galicie, WEIL et FELIX (165), isolent des urines de malades atteints de typhus

exanthématique, des souches X ayant les caractères du *Proteus vulgaris*. Ils constatent que ces souches, numérotées X2 et X19 sont agglutinables par le sérum des typhiques. Par la suite on isola ces mêmes germes, à partir d'organes, après la mort, et dans des hémocultures pratiquées vers la fin de l'incubation et au début de la maladie (FRIEDBERGER) (51).

Le *Proteus* X 19 présente les caractères généraux des Protéés ; il est indologène, fermente le maltose et le saccharose noircit les milieux à l'esculine en 24 heures, a une activité protéolytique faible ou nulle (147).

Son agglutination semble liée à des polysaccharides spécifiques (132) correspondant aux agglutinines somatiques O (27).

Elle pourrait n'être aussi qu'une réaction seconde due au passage dans la circulation sanguine d'un *proteus* banal modifié par sa culture dans le sang, provoquant la formation d'anticorps anti-protéus X (P. GIROUD et S. TANNENBAUM).

WEIL et FELIX ont remarqué que les vieilles cultures de *Proteus* sur gélose donnent des colonies O, sans cils. Cette forme O renferme la réceptrice spécifique pour le sérum des malades, et donne une agglutination à grains fins ; au contraire, la forme H (antigènes ciliaires), n'est pas spécifique, et agglutine en gros flocons. Les anticorps O sont thermo-labiles (82) ce qui permet de faire le diagnostic différentiel entre le typhus et les infections à protéus.

Par la suite, on s'est rendu compte qu'à chaque variété de typhus correspondait jusqu'à un certain point, un type de Protéus O X.

La réaction de Weil-Félix se pratique de la façon suivante : préparer une émulsion de Protéus assez dense à partir d'une culture de 18 à 24 heures sur gélose sèche. Faire des dilutions du sérum à étudier au 1/10^e et au 1/100^e ; distribuer dans six tubes 1 cc. d'émulsion de

Protéus ; ajouter dans les tubes les quantités suivantes des dilutions du sérum :

Tube n°	1	2	3	4	5	6
Sérum	4 gouttes	2 g.	1 g.	4 g.	2 g.	1 g.
Dilutions	au 1/10	1/100	1/200	1/500	1/1000	1/2000

Lire après une heure d'étuve à 37° ; puis au bout de 24 heures à la température ambiante.

D'après LEPINE, une réaction au 1/50° doit être tenue pour positive ; le taux généralement admis est le 1/100°.

Signalons que, classiquement, le cobaye ne présente pas de réaction de Weil-Félix (80).

Taux de la réaction de Weil-Félix au cours des fièvres exanthématiques.

La réaction de Weil-Félix au cours du typhus historique a été récemment bien étudiée par SCHUTZ et MESSERSCHMIDT (149), puis par MALY (106). Elle est positive chez 30 pour 100 des malades au troisième jour, chez 85 pour 100 au septième, chez 99 pour 100 au cours de la troisième semaine. Son taux qui atteint 1/100 au troisième jour, s'accroît jusqu'à 1/3200 vers le vingtième jour, puis décroît progressivement jusqu'au quarantième jour. Des souches O X 19 sont mieux agglutinées.

Au cours du typhus murin, la réaction de Weil-Félix présente les mêmes caractères que dans le typhus historique mais la souche de prédilection est la souche O X 2.

Le groupe des fièvres pourprées agglutine la souche O X L, tandis que le groupe asiatique agglutine mieux l' O X K.

Il est parfois difficile de faire parvenir en bon état de conservation un prélèvement de sang au laboratoire.

Aussi H. DIACONO (39) a-t-il proposé de se servir de sang desséché sur un fragment de papier filtre de di-

mension déterminée, fragment qui est mis en suspension dans de l'eau physiologique au moment de l'emploi.

Des méthodes de diagnostic rapides, utilisables au lit du malade, ont été mises au point ; elles dérivent de la réaction de Weil-Félix.

2°) *Hémodiagnostic.*

Au lit du malade, la méthode de L.-C. BRUMPT (20) est particulièrement intéressante et c'est une excellente technique d'orientation. Une goutte de sang est déposée sur une lame de verre ou un carton et mélangée intimement avec une suspension de *proteus* formolée, citratée et colorée au bleu de méthylène. On imprime alors un balancement rotatif au carton ou à la lame. Au bout de une à trois minutes, si la réaction est positive, les agglutinats microbiens se déposent à la périphérie de la goutte où ils forment une bordure bleue claire.

L'auteur pense que l'intensité de la réaction permet de prévoir le taux de la réaction de Weil-Félix, et aurait une grande utilité au cours des recherches épidémiologiques.

3°) *Tr. B. A.*

STEUER et KUDICKE utilisent une méthode d'agglutination avec du sang séché (156 et 157) — le Tr. B.A. (Troekenblut = Probe Agglutination) qu'ils pratiquent de la façon suivante : ils recueillent sur une lame trois petites gouttes de sang, qu'ils laissent sécher à l'air. Puis ils ajoutent à chaque goutte le contenu d'une, de deux et de trois anses d'émulsion de *protéus*. Ils rendent homogène chaque goutte en imprimant à la lame des mouvements de rotation lente et de bascule puis ils lisent l'agglutination à la loupe au bout de 10, 20 et 30 minutes. D'après les auteurs, si le Tr. B. A. est nettement positif pour les trois gouttes, il a la valeur diagnostic d'une réaction de Weil-Félix; s'il est faiblement positif on peut

sans difficulté le répéter au cours des jours qui suivent et comparer les résultats.

4°) *L'agglutination spécifique des rickettsies.*

OTTO et DIETRICH (134), WEIGL (162) ont montré que le sérum des malades atteints de typhus agglutine des suspensions de *Rickettsia Prowazeki*; cette réaction est rigoureusement spécifique, et se manifeste à des taux très élevés. WEIGL prend comme antigène une suspension purifiée de rickettsies, ce qui est très difficile à obtenir même aux dépens du pou; il pratique l'agglutination, en chambre humide paratinée; il dépose sur la lamelle des gouttes très fines de rickettsies; à chacune de ces gouttelettes, il ajoute une anse d'une dilution déterminée (du 1/10° au 1/320°) du sérum à étudier. La lecture se fait à l'ultramicroscope, après 24 heures de contact entre le sérum et les rickettsies à la température ambiante.

P. GIROUD et Mme GIROUD préparent leur antigène à partir de poumons non congelés, de souris ou de lapins, très riches en rickettsies. Après broyage et mise en émulsion dans de l'eau physiologique formolée à 2 pour 1.000 ou phéniquée à 5 pour 1.000, ils se servent d'une suspension de rickettsies obtenue par centrifugations fractionnées ou par décantation. Huit tubes à agglutination reçoivent le premier IX gouttes, les autres V gouttes de suspension d'antigène. Puis ils ajoutent dans le premier tube une goutte de sérum pur. Ils prélèvent ensuite cinq gouttes du premier tube, qu'ils portent dans le second, puis après mélange, V gouttes du second qu'ils portent dans le troisième, et ainsi de suite. Ils obtiennent ainsi une gamme de dilutions allant du 1/10° au 1/1280°.

Tube n°	1	2	3	4	5	6	7	8
Antigène	9 g.	5 g.	5 g.	5 g.	5 g.	5 g.	5 g.	5 g.
Sérum	1 g.	5 g.	5 g.	5 g.	5 g.	5 g.	5 g.	5 g.
Dilutions	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280

Une goutte de chaque dilution est déposée sur une lame; la lame est conservée douze heures à la température ambiante, dans une boîte de Petri, contenant de l'eau. A ce moment, les gouttes séchées, puis fixées, sont colorées par la méthode de Giemsa ; l'agglutination se lit au microscope.

A titre d'indication, nous rapportons les deux exemples ci-contre qui montrent l'accroissement rapide du taux de l'agglutination des rickettsies après vaccination. Le sujet P présentait déjà une agglutination au 1/20^e avant vaccination ; les deux sujets vaccinés avec l'antigène lapin (mélanges des souches HSP, Africaine et W.13, polonaise) ont été éprouvés vis-à-vis des souches HSP et W 13.

5°) *Opsonines anti-rickettsies.*

RUIZ CASTANEDA (28) laisse en contact pendant une heure à 37° le sérum à étudier, du sang normal défibré et des suspensions de rickettsies provenant de rats irradiés infectés, contenant 1.000 éléments par champs microscopique. Il numère ensuite sur frottis les cellules ayant englobé les rickettsies et constate des opsonines dans le sérum du cobaye de 96 heures à 3 mois après l'infection typhique. Le sérum humain d'anciens malades a des propriétés neutralisantes jusqu'à 2 et 6 ans après l'infection. Cette réaction est difficile à pratiquer.

6°) *Fixation d'alexine.*

Les auteurs donnent des résultats discordants, vraisemblablement dus à la différence des antigènes employés.

Avec comme antigène la rickettsia Prowazeki, la réaction est positive du quatrième au cinquième jour de la maladie et le reste souvent pendant des années (MOSING (112)). Mais si cet antigène vient du pou, il peut être in-

OBSERVATION I. — M. P... (30 ans)

8 décembre 1942 : Avant vaccination

	10	20	40	80	160	320	640	T
H S P	++	+	0	0	0	0	0	0
W 13	++	+	+	0	0	0	0	0
15 décembre 1942 : 7 jours après une injection (1 cm ³)								
H S P	++++	++++	++++	++	+ ?	0	0	0
W 13	++	+	+	+	+	$\pm$ $\equiv$	0	0
22 décembre 1942 : 7 jours après la deuxième injection (1 cm ³)								
H S P	++++	++++	++++	++++	++	+	0	0
W 13	++++	++++	++++	++++	++++	+	+	0
7 janvier 1943 : 14 jours après la troisième injection (1 cm ³)								
H S P	+++++	++++	+++++	++++	++++	0	0	0
W 13	++++	++++	++++	++++	++	$\pm$ $\pm$	0	0

OBSERVATION II. — M. B... (31 ans)

8 décembre 1942 : Avant vaccination

	10	20	40	80	160	320	640	T
H S P	0	0	0	0	0	0	0	0
W 13	0	0	0	0	0	0	0	0
15 décembre 1942 : 7 jours après une injection (1 cm³)								
H S P	++++	++	0	0	0	0	0	0
W 13	Illisible							
22 décembre 1942 : 7 jours après la deuxième injection (1 cm³)								
H S P	+	+++	+++	+	+	0	0	0
W 13	+	+++	+++	±	±	0	0	0
29 décembre 1942 : 7 jours après la troisième injection (1 cm³)								
H S P	++	++++	+++	+++	±	0	0	0
W 13	++	+++	+++	+++	0	0	0	0

suffisamment purifié et donner des résultats positifs avec le sérum d'individus sains parasités par les poux.

B) TESTS D'IMMUNITÉ IN VIVO

7°) Réaction cutanée à l'exanthine.

VON FRIEDBERGER et VAN DER REIS (1919) ont remarqué que l'injection intradermique de cultures de *Proteus* déterminait chez des malades atteints de typhus une réaction cutanée. BOGDANOFF (18), NEMSCHILOW (115), HESCHELES et FLECK (81), KURODA (88), ont essayé d'en tirer un diagnostic des fièvres exanthématiques. Chez les sujets bien portants, n'ayant pas eu le typhus, on voit apparaître, 24 heures après une injection intradermique d'extraits de *proteus* X19 ou exanthine, un érythème qui au bout de 48 heures, s'infilte légèrement. Les typhiques et les convalescents de typhus ne présentent pas ce phénomène. Cette réaction a été appliquée aux animaux; KURODA l'a étudiée avec une souche de *Proteus* XK vis-à-vis de la fièvre fluviale du Japon.

Ces réactions ne sont pas entrées dans la pratique ; il en est de même de la déviation du complément effectuée au moyen de sérum typhique en présence de cultures de *Proteus* X, (WAGNER, 161).

8°) Réaction cutanée aux rickettsies.

En 1939, BLANC et NOURY (13) écrivent que le lapin inoculé une première fois avec du virus de typhus murin ou de fièvre boutonneuse perd très vite l'immunité cutanée. La durée de persistance du virus dans l'organisme du lapin étant d'au moins vingt jours, il est probable qu'au moment des premières réinoculations positives le lapin est encore infecté. L'absence d'immunité cutanée montre la disjonction qui existe entre l'immunité générale ou viscérale et l'immunité de certains tissus. Il res-

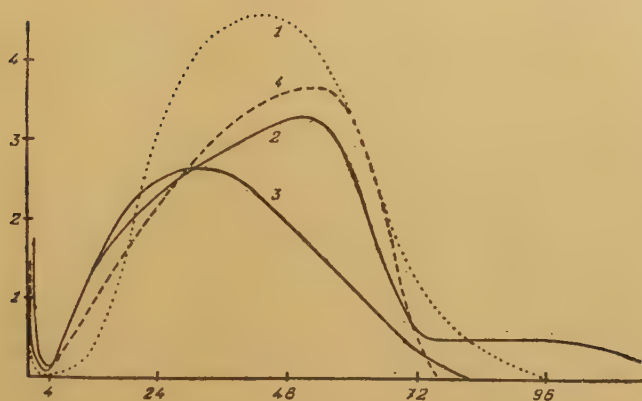


Fig. 1.

Réactions provoquées par l'injection intra-dermique de rickettsies tuées chez les sujets sensibles.

En ordonnée, la dimension de la réaction provoquée par l'injection intra-dermique à la face antérieure de l'avant-bras (de 1/10^e cc. de la suspension F. 65 L.) et mesurée en centimètres; en abscisse, le temps écoulé après l'injection intra-dermique.

Courbe 1. — Sujet Ba..., typhus épidémique grave datant de 9 mois chez un sujet non vacciné.

Courbe 2. — Sujet Th..., typhus épidémique bénin datant de 20 mois et ayant débuté 2 jours après la dernière injection de vaccin de WEIGL.

Courbe 3. — Sujet Be..., typhus épidémique il y a 25 ans chez un sujet qui n'a pu être en contact avec des infections de ce groupe depuis cette époque.

Courbe 4. — Sujet Br..., qui est en contact permanent avec les virus et qui a un test séro-protection positif.

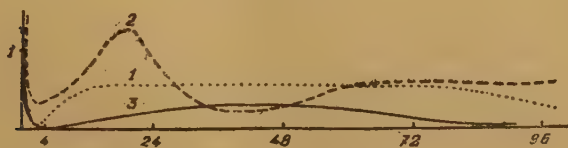


Fig. 2.

Réactions provoquées chez des sujets dont la sensibilité n'a pas été augmentée.

Courbe 1. — Sujet Ma..., témoin sans antécédent particulier.

Courbe 2. — Sujet Co..., témoin ayant reçu 45 jours avant du sérum anti-diphthérique.

Courbe 3. — Sujet Ga..., témoin un mois après une fièvre typhoïde.

sort de ces faits que le lapin ne peut être utilisé pour différencier des virus typhiques en recherchant l'immunité croisée par inoculation intra-cutanée.

P. GIROUD (67) signale au même moment que, au cours de l'infection locale de primo-inoculation, les animaux ne présentent de réaction que si l'on vient à les réinoculer; par contre, après la phase d'infection, les réactions locales de deuxième inoculation sont plus précoces, plus nodulaires, plus intenses que les réactions de primo-inoculation. GIROUD a pensé à reproduire ce phénomène avec des suspensions de rickettsies tuées chez des sujets ayant fait des typhus; l'antigène est préparé aux dépens de poumons de souris ou de lapin broyés et mis en suspension dans de l'eau physiologique formolée à 2 p. 1.000.

L'injection intra-dermique de 1/10^e de cc. d'antigène provoque dans le derme de tous les sujets une papule d'urticaire de 10 à 15 mm. de diamètre, entourée parfois d'un érythème fugace; cette papule régresse rapidement et dans les heures qui suivent on ne constate qu'une petite tache érythémateuse au point d'inoculation. A partir de la cinquième heure il apparaît un placard érythémateux avec infiltration du tissu sous-jacent. Chez les individus témoins cette réaction ne dépasse pas 4 à 5 mm., tandis qu'elle peut atteindre 40 à 50 mm. chez les sujets sensibles; son maximum est en général entre la vingthuitième et la cinquante-deuxième heure; elle disparaît vers la soixante-douzième heure. GIROUD (voir courbes) a observé cette réaction encore nettement positive 600 jours après l'infection; elle l'était vingt-cinq ans après chez un sujet ayant fait un typhus grave et n'ayant pas été en contact depuis avec des typhiques. Elle est légèrement positive chez des sujets vaccinés par la méthode de Durand-Giroud, et dans une certaine mesure son intensité permet d'évaluer l'immunité conférée par le vaccin.

9°) *Test de séro protection cutanée de Giroud (137).*

En janvier 1936, GIROUD et PLOTZ (78) étudient les variations du pouvoir infectant des cultures de virus typhique selon les voies d'introduction, et en particulier la possibilité de vacciner sur la peau rasée. En avril, BALTAZARD (3) publie les réactions locales du derme au cours de l'infection typhique murine et de l'infection boutonneuse chez le cobaye. En novembre GIROUD (62) note des réactions analogues au cours d'essais d'immunisation faits avec des cultures desséchées de virus typhique murin.

Frappé par la régularité des réactions cutanées vis-à-vis des dilutions de virus, GIROUD (65 et 66) a pensé que ces réactions, faciles à observer sur un même animal, permettraient d'apprécier avec une plus grande sensibilité des variations minimales d'anticorps. Les suspensions variables de rickettsies, mises en contact avec le sérum à étudier, sont inoculées dans la peau d'un flanc de l'animal, et des suspensions équivalentes mélangées avec du sérum témoin sont inoculées dans l'autre. Les essais ont été faits avec le rat, le cobaye et le lapin. Ce dernier animal est de beaucoup le plus sensible.

Le test de séro protection se pratique de la façon suivante:

On choisit un animal neuf, à peau épaisse non pigmentée, dont les deux flancs sont comparables. L'épilation doit être faite au moins la veille à la main, ou le jour même à l'aide d'une tondeuse électrique. Elle est pratiquée au niveau des flancs, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Les injections seront séparées chacune de 3 à 4 cm. On peut en faire 5 de chaque côté, chez le lapin.

On utilise comme matériel virulent une suspension de rickettsies obtenue à partir d'un poumon de souris ou de lapin infectés et sacrifiés vers le sixième jour. Cette suspension est préparée par broyage suivi d'un temps de

repos destiné à laisser se déposer les grosses particules du poumon. Nous allons décrire, par exemple, la technique utilisée à partir du poumon de souris. Un quart des deux poumons d'une souris est mis en suspension dans 3 cc. d'eau physiologique; on considère la suspension obtenue comme une suspension mère au 1/40°. On procède ensuite de la façon suivante:

On ajoute à 0,1 cc. de cette suspension virulente 0,9 cc. du sérum à étudier; on obtient une dilution au 1/400°; on mélange; d'une part 0,2 cc. de cette dilution sont mélangés à 0,2 cc. de sérum pour obtenir une dilution au 1/800°; d'autre part 0,1 cc. de cette dilution est mélangé à 0,3 cc. de sérum pour obtenir une dilution au 1/1600°.

On procède de même avec le sérum témoin.

Suspension mère

au 1/40°	0,1	0,2	0,1
Sérum	0,9	0,2	0,3
Dilution	400	800	1600

On laisse en contact une demi-heure à 37°. On inocule localement 2/10° de cc. de chaque dilution: les réactions sont donc provoquées respectivement avec le 1/2000°, le 1/4000° et 1/8000° de poumon de souris. Etant donné que le poids des deux poumons d'une souris varie entre 40 centigrammes et 1 gramme, les doses inoculées varient entre le 1/2000° et le 1/25.000° de gramme.

Bien entendu, ces réactions sont provoquées par des doses qui ne sont pas limites; en effet, quoique le poumon de souris soit plus infectant que le poumon de lapin, on obtient avec ce dernier des réactions locales avec 1/50.000° de gramme.

Réaction. — A partir du quatrième jour, le flanc qui a reçu le mélange témoin virus-sérum normal présente des nodules érythémateux variant de 5 à 40 mm. selon les doses de virus. Les réactions les plus importantes

peuvent évoluer vers la nécrose. Le huitième ou le neuvième jour, la peau devient furfuracée, surtout chez le lapin. Sur l'autre flanc où l'on a inoculé le mélange virus sérum anti, les réactions sont infiniment moins nettes ou sont absentes.

Il est à remarquer que, lorsqu'on fait le test sur un lapin tondu, il subsiste par la suite une alopecie complète aux points d'injection, tandis que tout autour le poil recommence à pousser vers le dixième jour. Quand le lapin a été épilé, c'est le contraire qui se produit : on constate à partir du dixième jour une hypertrychose locale aux points d'inoculation. Ces faits permettent de faire le diagnostic rétrospectif, plusieurs mois après.

A titre d'exemple nous reproduisons ci-contre un tableau emprunté à GIROUD (62) ; le test a été fait sur lapin ; la suspension de rickettsies provient d'une vaginale de cobaye infecté de typhus murin ; il s'agit aussi de sérum de typhus murin. (Sérum homologue).

L'auteur a pu constater par cette technique la neutralisation du virus, soit par des sérums prélevés au cours des infections, soit par les sérums d'anciens malades (typhus épidémiques murin, malais, boutonneux).

Après vaccination, P. GIROUD a constaté, avec cette fois un antigène hétérologue, des réactions qui, à première vue, sembleraient paradoxales. Le sérum des sujets vaccinés avec un vaccin tué prélevé de 3 jours à 2 mois après la troisième inoculation, provoque parfois, mélangé avec le virus murin, une réaction plus importante que celle obtenue avec le mélange virus-sérum normal.

EPREUVE DE SERO PROTECTION CUTANEE

LAPIN D 63

Sérum G.

Typhus murin

Durée du test en jours	Quantité de virus employé					
	1/800 vaginale		1/400 vaginale		1/200 vaginale	
	Sérum A. Typh.	Sérum normal	Sérum A. Typh.	Sérum normal	Sérum A. Typh.	Sérum normal
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	?	0	e
4	0	±	0	++	±	++
5	0	±	0	++	±	++
6	0	+	0	+	0	+
7	0	f	0	±	0	f
8	0	f	0	f	0	f
9	0	f	0	f	0	gl
10	0	gl	0	gl	0	gl
11	0	gl	0	gl	0	gl
12	0	0	0	gl	0	gl
13	0	0	0	0	0	0

+ Réaction nodulaire : e : érythème; f : réaction furfuracée
gl : zone glabre

CHAPITRE II

IMMUNITÉ ET PRÉMUNITION

La mise en pratique des tests de laboratoire, la transmission expérimentale du typhus à l'animal permettent de déceler des cas de maladie bénigne ou inapparente autrefois inconnue et en particulier des cas de récidence.

E. SERGENT, L. PARROT et A. DONATIEN (151) ont été amenés à distinguer immunité vraie et prémunition, et à en apporter des définitions précises dans diverses affections.,

Les maladies à immunité vraie comportent uniquement, écrivent-ils un « stade aigu, expression dramatique du conflit qui met aux prises les virus pathogènes et l'organisme envahi. Une fois guéri, l'organisme a acquis le pouvoir nouveau et très souvent durable de résister à toute contamination ultérieure, à la réinfection. »

Les maladies à prémunition présentent deux phases successives. Dans une période initiale de durée plus ou moins longue, dite période d'invasion, le conflit se traduit par des signes d'intensité et de gravité variables, selon la nature du virus agresseur. Puis quand la lutte tourne à l'avantage du sujet, un état d'équilibre s'établit entre les pouvoirs de défense de l'organisme, accrus, et de l'assaillant. L'infection devient chronique, discutée et généralement anodine. Le sujet reste infecté, mais il a cessé d'être un malade. Aussi longtemps que dure l'infection chronique latente l'organisme ne peut être surinfecté,

c'est ce qui se passe pour la syphilis et pour le paludisme. Si le pouvoir de défense de l'organisme subit une diminution, quelle qu'en soit la cause, l'infection subit une recrudescence ; c'est la rechute. Ainsi peut-on expliquer par exemple les rechutes au cours des affections typhoïdiques.

Il y a immunité vraie quand la guérison étant totale, clinique et microbiologique un état réfractaire survit à l'infection. L'immunité vraie est *post-infectieuse*.

Il y a prémunition quand la guérison clinique et la guérison microbiologique ne coïncident pas, un stade d'infection chronique latente, asymptomatique fait suite à la guérison clinique ; pendant ce stade l'organisme résiste à la surinfection. La prémunition est *co-infectieuse*.

Donc les maladies à prémunition diffèrent des maladies à immunité vraie par la persistance prolongée du virus dans l'organisme après la guérison des accidents cliniques de première invasion.

Pour BLANC et NOURY (13 bis) le sens de la « prémunition peut être également lié à ce que Ed. SERGENT et L. PARROT ont si heureusement appelé la loi de « préséance » et qu'ils définissent ainsi :

« Lorsqu'un germe infectieux a pénétré dans un organisme et même avant que sa présence ait été signalée par une réaction quelconque, toute agression nouvelle par un virus de même espèce peut se heurter à une résistance : les deux virus ne se surajoutent pas ; tout se passe comme si le premier excluait le second. La place reste au premier occupant. »

C'est le sens de cette préséance et de la prémunition qui en découle qu'adoptent BLANC et NOURY pour désigner les phénomènes de résistance à une nouvelle infection typhique que présente le cobaye infecté de typhus de type historique ou du type murin.

Lorsqu'on inocule en même temps, un cobaye avec les deux virus historique et murin, par voie intrapérito-

néale, le phénomène de préséance se produit; seul un des virus évolue chez l'animal. La préséance peut être en faveur de l'un ou de l'autre des virus inoculés.

Chez le cobaye, après l'inoculation d'un virus typhique, historique ou murin, quelle que soit la voie d'inoculation, lorsque l'infection est généralisée, que la fièvre est apparue, l'état de prémunition est constant. Il est manifeste lors de la réinoculation de l'animal avec un autre virus quelle que soit sa nature, historique ou murin, et quelle que soit la voie d'inoculation.

La prémunition se manifeste en général 48 heures après l'inoculation. Avant ce terme il y a toujours préséance, un seul virus évolue mais ce n'est pas toujours le premier; il arrive que ce soit le second inoculé qui apparaisse.

Huit jours après la première inoculation et avant l'apparition de la fièvre, l'état de prémunition est constant.

Comme au huitième jour, l'état de prémunition est constant aux sixième, quatrième et troisième jour de l'injection.

En résumé: la prémunition provoquée par une première inoculation de typhus, se manifeste pendant la période fébrile et aussi pendant la période d'incubation préfébrile; elle apparaît dès le troisième jour de l'inoculation.

A. — La réinoculation, quelle que soit la voie de pénétration du second virus, n'entraîne jamais d'infection si elle est faite à l'animal inoculé d'un premier virus en période fébrile.

B. — L'effet de la réinoculation varie suivant les cas et suivant le mode d'introduction du virus si cette deuxième inoculation est faite en période d'incubation avant l'apparition de la fièvre.

Soit un cobaye inoculé de typhus épidémique par voie intrapéritonéale et réinoculé par voie intracutanée:

— si la réinoculation est faite en période fébrile, la loi générale est appliquée, le cobaye fait seulement un typhus épidémique. Il n'y a aucune réaction cutanée au point de la seconde inoculation.

— si la seconde inoculation, de typhus murin dans la peau, est faite avant l'apparition de la fièvre, on assiste à un phénomène nouveau.

Le second virus évolue bien dans la peau ; au point d'inoculation, il se fait une réaction du type que nous avons décrit, mais cette réaction régresse ensuite sans que le virus murin ait pu se développer dans le reste de l'organisme où déjà la prémunition, suite de la première inoculation, l'arrête.

En résumé, il est possible, par la technique que nous venons de décrire, de provoquer à la fois, sur le même animal, deux infections typhiques. Mais la seconde infection reste localisée, elle ne peut se généraliser. Tout se passe comme si le facteur de résistance, de prémunition, qui apparaît à la suite de l'inoculation intrapéritonéale s'arrêtait à la peau non encore touchée par l'infection. Ce phénomène paraît lier intimement la prémunition et l'infection, il relève strictement de la loi de prééance. *Le facteur de prémunition paraît ainsi plus tissulaire qu'humoral.*

Soit un cobaye inoculé de typhus murin dans le péritoine, puis de typhus historique dans la peau :

L'incubation du typhus murin étant courte le développement du typhus historique ne donnant pas de réaction cutanée, on observe toujours la prémunition du typhus murin contre le typhus historique, et l'on retrouve toujours dans les viscères le virus de typhus murin et lui seul.

Si le cobaye est inoculé avec du typhus murin dans la peau, puis avec du typhus historique dans le péritoine ; l'évolution de l'infection typho-murine étant rapide et l'infection locale s'accompagnant d'infection générale, la

prémunition empêche le développement du virus historique inoculé après le virus murin ; on retrouve toujours dans les organes le virus du typhus murin.

La persistance du virus dans l'organisme après la guérison clinique a conduit à penser que la détermination de l'état réfractaire corrélatif à l'infection chronique était sous la dépendance du système réticulo-endothélial. BENHAMOU (7) pour le prouver bloque le système réticulo-endothélial par splénectomie : l'infection se réveille. P. LEPINE et F. BILFINGER (99) bloquent le système réticulo-endothélial d'un singe (*Macacus cynomolgus*) inoculé de typhus murin par des injections intra-veineuses d'encre de Chine pendant la période d'incubation ; le singe infecte des poux neufs, contrairement à la normale, comme s'il s'agissait du virus du typhus exanthématique.

Dans sa thèse G. PARROT (140) applique au rickettsies ces notions et conclue en faveur de la prémunition. L'évolution des rickettsies (*R. Canis*, *R. Ovina*, fièvre des tranchées) écrit-il, comprend après un premier stade, généralement aigu, d'invasion, une longue période d'infection latente pendant laquelle le sujet, guéri en apparence, mais resté porteur de germes, résiste aux surinfections ; cette résistance correspond à la prémunition et non à l'immunité vraie.

D'autres rickettsies (typhus exanthématique, typhus murin, fièvre boutonneuse, fièvre du Japon, fièvre pourprée) relèvent aussi de la prémunition ; comme les précédentes elles paraissent comporter une longue période d'infection chronique latente durant laquelle les sujets prémunis constituent des réservoirs de virus.

C'est ainsi que dès 1934, ZINSSER (168) décrivant les cas de maladie de Brill observés à New-York, chez les immigrants, en majeure partie Juifs, venus de l'Europe Orientale, les considère comme des recrudescentes d'une affection anciennement acquise par les immigrants dans leur pays d'origine. La maladie de Brill, bénigne, serait une rechute de typhus exanthématique vrai, qui se renou-

velle grâce à un nombre constant de rechutes survenant chez d'anciens infectés.

En fait, les observations de PARROT, et lui-même l'écrit, démontrent d'une part la longue persistance (1) du virus chez l'animal après la guérison, d'autre part, l'influence du système réticulo-endothélial sur l'intensité de l'infection.

Elles montreraient que les anciens typhiques passent par une phase de prémunition mais n'excluent pas par la suite une phase d'immunité vraie.

Pour ce qui concerne la maladie de Brill, G. BLANC, dans une thèse récente, inspirée par lui, pense qu'il ne s'agit pas d'une rechute, mais d'une infection dont les germes auraient été apportés dans les bagages des immigrants sous formes de crotte desséchée de poux ou de puces.

Tant que l'on n'aura pas pu démontrer que de longues années après l'infection, parfois 10, 15, 20 ans, le sujet est encore porteur de germes, il semble donc logique de se rattacher à l'opinion de Ch. NICOLLE et J. LAIGRET (124) qui admettent l'existence après la guérison clinique des cobayes et des rats inoculés, d'une période de prémunition vraisemblablement assez longue à laquelle ferait suite une phase d'immunité vraie. Mais il est vraisemblable que la présence du virus typhique dans le sang circulant après la période d'évolution apparente de l'infection se prolonge assez longtemps, ainsi que l'a montré P. GIROUD (55).

Sur 16 animaux inoculés avec les caillots broyés provenant de huit cobayes typhiques au vingt-deuxième et trentième jour de l'inoculation, 13 ont fait une fièvre

(1) 156 j. pour R. CANIS, 28 j. pour R. OVINA (F. LESTOQUARD et A. DONATIEN (102), 35 j. pour le HEART-WATER, 6 mois pour la Fièvre des tranchées (A. BACOT (2) ; 20 j. pour la fièvre pourprée Ch. NICOLLE et J. LAIGRET (125) ; 374 j. pour le typhus murin chez le spermophile (P. LÉPINE et V. SAUTTER (101)).

légère, trois n'ont fait aucune réaction thermique anormale ; trois fois l'épreuve faite au bout d'un mois par voie péritonéale avec le virus historique de Ch. NICOLLE a permis de constater la non réceptivité de ces animaux à une nouvelle infection.

On peut donc conclure de ces faits à la persistance du virus dans le sang circulant après la période classique de l'infection expérimentale. La quantité de virus, mise ainsi en évidence chez les cobayes de passage, est à la limite inférieure du pouvoir infectant, un animal sur deux dans les trois groupes immunisés mettant seul en évidence l'infection antérieure. On peut donc se demander si les immunités, recherchées assez précocement au laboratoire ou dans l'expérimentation, ne sont pas dues dans un certain nombre de cas à la présence du virus et non à un fait d'immunité acquise à la suite de l'infection. Les faits rapportés ci-dessus en sont une preuve. Il s'agirait non pas chez ces animaux d'immunité, mais de prémunition ou de préséance suivant le terme employé par Ed. SERGENT pour certaines infections.

S'il fallait d'ailleurs apporter une nouvelle preuve de l'existence d'une phase d'immunité vraie, il suffirait de citer l'efficacité des vaccinations effectuées à partir de vaccins tués, efficacité cependant niée par Ch. NICOLLE qui écrivait que « pour que l'inoculation laisse à sa suite une immunité, si légère soit-elle, il est nécessaire qu'il y ait eu infection, donc emploi de vaccin vivant. »

Tout porte à croire que, après l'infection, le virus subsiste très longtemps dans l'organisme, même lorsqu'on ne peut plus l'y mettre en évidence. En même temps qu'il protège son hôte du fait de sa présence, par prémunition, il permet à l'organisme *d'élaborer* sans cesse et *de renouveler* ses anticorps, créant ainsi une immunité vraie ; dès que le virus disparaît, ce renouvellement ne s'opère plus et l'immunité diminue rapidement, ouvrant ainsi la porte à une nouvelle infection. C'est ainsi que l'on peut expliquer que de deux expérimentateurs particuliè-

rement illustres, l'un ZINSSER ait fait deux infections typhiques, l'autre WEIGL ait subi trois atteintes.

Ne pouvons-nous pas envisager que les vaccins tués ne confèrent qu'une immunité relative, qui place le sujet vacciné dans un état tel, vis-à-vis du virus en milieu épidémique ou contaminé, que l'infection se produit, mais atténuée, prenant la forme d'une maladie inapparente, atypique ou bénigne qui renforce dans l'organisme l'immunité conférée par la vaccination.

A l'appui de ces faits, on peut rapporter les observations suivantes :

OBSERVATION I

Mlle T..., 23 ans, travaille dans le service du Docteur GIBOUD depuis le début de mars 1942 ; elle reçoit de sept en sept jours cinq injections de vaccin de DURAND et GIBOUD, à partir de février 1942. Son emploi (manipulations des boîtes contenant les poumons infectés) l'expose tout particulièrement à l'infection. Au début d'avril, la malade présente pendant trois jours un état fébrile, oscillant entre 38°5 et 39°, accompagné de douleurs musculaires, surtout au niveau des fosses sous et sus épineuses ; aucune éruption, aucun symptôme clinique ne permet de préciser le diagnostic. Mais depuis cette période Mlle T... continue son travail sans incident, et son sérum, quatre mois après la maladie, agglutine les rickettsies à 640.

Il s'agit là d'une forme ambulatoire atypique, qui signe la pénétration du virus dans l'organisme, et en même temps l'accentuation de l'immunisation de Mlle T... ; cette immunité a été de plus prouvée par la réaction d'hyper-sensibilité cutanée à l'antigène tué ; ce sujet, en effet, recevant six mois après son infection une injection intradermique d'antigène présente une réaction caractéristique entre la sixième et la soixante-douzième heure, comme les sujets qui ont fait un typhus typique.

OBSERVATION II

M. H..., 29 ans, vacciné en même temps et dans les mêmes conditions que Mlle T..., pratique chaque jour les autopsies et les inoculations de 20 lapins. Le 8 juillet 1942 il se plaint de céphalées frontales et sous-orbitaires, et se sent fiévreux; ces symptômes s'accroissent les jours suivants; du 10 au 14, la température se maintient entre 38° et 39°, avec un clocher le 13 à 39°7; ce clocher coïncide avec une éruption discrète sur l'abdomen et les avant-bras; durant toute cette période le sujet, qui a cessé son travail, fait une petite promenade chaque jour. Le 15, la défervescence se produit. Depuis cette époque, malgré l'épreuve quotidienne au virus que crée son travail, le sujet ne s'est jamais recontaminé.

Les observations que nous venons de citer viennent par conséquent à l'appui de la thèse que nous avons proposée.

Le vaccin tué, bon antigène, prépare le terrain et permet une infection bénigne. Le diagnostic rétrospectif de cette atteinte peut être fait par la recherche des agglutinines antirickettsies et le test de l'hypersensibilité.

Chez l'homme, l'établissement d'une immunité vraie par vaccins tués n'est pas impossible, mais elle exige de nombreuses injections vaccinales, et elle a une durée relativement courte.

Chez l'animal, qui est moins sensible à l'infection un vaccin tué peut conférer une immunité absolue.

Toutefois, des expérimentateurs comme LAIGRET (91) maintiennent leur opinion, sur le non pouvoir vaccinant des antigènes tués; il admet que le pouvoir immunisant est lié à la survivance partielle du virus.

Lorsqu'il vaccine un cobaye ou un rat avec une dose de son antigène cerveau de souris paralysigène traité pendant quarante-huit heures à l'acide phénique au 1/100°

(produit incomparablement plus pauvre en antigène que le poumon de souris ou de lapin), il constate que le cobaye et le rat ne sont pas vaccinés quand la souris témoin de son atténuation n'est pas paralysée. S'il traite au contraire le cerveau de souris par l'acide phénique au 1/1000^e, ou au 1/10.000^e il ne détruit pas complètement le pouvoir infectant de la suspension puisque la souris est paralysée, et le cobaye et le rat sont vaccinés.

Mais les conditions dans lesquelles se place cette expérimentation sont tout à fait particulières : le produit est pauvre en antigène, et les animaux ne reçoivent qu'une seule injection vaccinnante.

CHAPITRE III

NOTION DE TERRAIN ET FIÈVRES EXANTHÉMATIQUES

De grosses difficultés s'opposent à l'obtention de rickettsies en grande quantité : on a tenté pour y pallier de faire agir sur les animaux inoculés différents facteurs destinés à modifier le terrain.

L'observation des grandes épidémies, d'autre part, a apporté de nombreux arguments sur le rôle du terrain. On sait que le typhus est une maladie de misère et de famine, particulièrement redoutable au cours des périodes de guerre et de disette.

Deux grands facteurs semblent surtout jouer un rôle important pour la propagation du typhus, la fatigue et la sous-alimentation.

Déjà ZINSSER et CASTANEDA augmentent la quantité de rickettsies recueillies sur le rat blanc inoculé de typhus en le traitant soit par des injections de benzol (170), soit par des irradiations de rayons X (172), de manière à produire une leucopénie expérimentale. L'exsudat péritonéal des rats ainsi traités devient une véritable culture in vivo de rickettsies du typhus.

PARADA GAY et VARELA (138) poursuivant le même but, traitant leurs rats par des injections intrapéritonéales de sang de cobaye ; MACCHIAVELLO et DRESSER (105) font des rayons X à doses massives.

Mais les premières études systématiques du rôle du terrain sont dues à GIROUD au cours de ses recherches sur l'épidémiologie du typhus en Tunisie, et de ses expérimentations sur des animaux carencés.

Reprenant les résultats obtenus par Ch. NICOLLE et GIROUD (123), puis P. GIROUD (60) au cours de leurs prospections dans les foyers typhiques du bled tunisien en 1934-35 nous avons obtenu les résultats suivants :

	Hommes	Femmes	Enfants jusqu'à 15 ans
Sujets examinés	52	129	92
Typh. déclarés parmi ces sujets	10	31	26
Pourcentage de typhus	16	24	28
Réac. W.F. positives	11	59	31
Pourcentage de ces réac.	17	46	33
Maladies inapparentes	1	28	5
Pourcentage des mala- dies inapparentes	1	21	5

De ces recherches il ressort que les femmes et les enfants font beaucoup plus souvent des maladies inapparentes que les hommes. Au cours de l'épidémie localisée, pourtant bénigne de 1934, on a pu noter dans la région de Douahouda, très éprouvée par la disette, les chiffres suivants particulièrement éloquents :

Sur 33 individus examinés entre le 20 et le 27 juin 1934, 18 ont été malades ; 10 de leurs parents sont morts, ce qui représente 65 % de morbidité, parmi laquelle 32 % de mortalité.

Aussi P. GIROUD pouvait-il conclure en 1937 (64) que ces faits mettent en évidence l'importance de certains fac-

teurs et la possibilité de la transmission de l'infection typhique par la maladie inapparente, mais ils montrent surtout la susceptibilité plus grande des individus soit neufs, soit antérieurement infectés, en état de carence alimentaire. La notion de terrain sur laquelle PASTEUR a tellement insisté dès ses recherches géniales sur les fermentations en prend une importance de plus en plus considérable. Là où surgissent les épidémies, les hygiénistes dans le monde entier pensent non seulement à vacciner et à épouiller, mais à élever le standard de vie des populations. Des endémies telles que la tuberculose, la lèpre, paraissent ne devoir s'éteindre que par les progrès de la civilisation générale, améliorant l'alimentation, l'habitation, l'hygiène. On entrevoit la même perspective pour une maladie aiguë comme le typhus qui est une maladie de misère.

Ces résultats ont conduit P. GIROUD à étudier expérimentalement le comportement du virus typhique chez des animaux carencés. Il constate que (55 et 61) : au cours des régimes de carence et de précarence C, on peut mettre en évidence chez le cobaye inoculé avec le virus historique, une orchite et un trouble de l'évolution cyclique de l'infection. Le virus, localisé au niveau de la vaginale, peut être dans les mêmes conditions, passé d'un animal à l'autre, mais sans que l'on puisse fixer ce caractère d'une façon définitive.

La non adaptation aux viscères du virus typhique historique est une preuve de plus de la différence de ce virus et du virus murin. Ces constatations permettent aussi de juger de l'action si importante des régimes des animaux de passage au cours des conservations de virus, de juger expérimentalement de l'influence du terrain sur l'évolution d'un virus fixe comme l'est le virus typhique historique.

Des expériences analogues sur la souris, montrent l'importance du facteur alimentaire sur la pathologie des virus (59). Par un régime dépourvu de verdure on peut

conférer au cerveau d'une souris porteuse spontanée d'un virus inapparent pour elle-même et pour le cobaye de passage, un pouvoir pathogène pour le cobaye. Ce virus est donc présent dans les deux cas, mais n'existe que sous une forme très atténuée chez les animaux recevant un régime riche.

Il y a donc d'importantes transformations en fonction de l'alimentation. Ainsi, la souris que l'on considère comme peu sensible aux variations alimentaires et en particulier à la carence C, peut, selon les régimes, tantôt avoir un système nerveux infectant pour le cobaye, tantôt un cerveau possédant un simple pouvoir immunisant.

A plusieurs reprises, P. GIROUD a pu constater le phénomène suivant, d'un très grand intérêt.

Des animaux infectés en Afrique sont expédiés à Paris, soit par avion, soit par bateau; à leur arrivée à Paris, les souches ont un comportement différent de celui qu'elles avaient en Afrique; elles sont devenues beaucoup plus riches en rickettsies et plus virulentes et peuvent même provoquer la mort de l'animal sur lequel elles étaient inoculées.

De même, cet auteur avait remarqué au cours de ses prospections dans le bled que les animaux inoculés sur place, après un long voyage en automobile, se comportaient différemment des animaux inoculés au laboratoire.

P. GIROUD attribue ces variations à la fatigue imposée aux animaux par le voyage et le changement de milieu, fatigue d'ailleurs extériorisée par une chute de poids importante.

En effet, les différents facteurs (fatigue, souffrance, décours des infections spontanées), états où l'on constate de nombreuses modifications, celui de la vitamine C par exemple, déterminant des variations énormes de la virulence de 1 à 10 et plus.

Chez le cobaye enfin, P. GIROUD (58) a montré que l'inoculation locale d'extraits testiculaires ou d'hormone mâle provoquent une augmentation locale des rickettsies.

De plus, le développement plus ou moins intense des rickettsies, suivant les âges et les sexes chez le cobaye, pourrait jusqu'à un certain point éclairer les faits rapportés ou constatés par les différents auteurs et dont il avait été frappé au cours de ses prospections dans les foyers typhique du bled tunisien, la bénignité chez l'indigène du typhus de l'enfant, la moindre gravité du typhus chez la femme, la plus grande fréquence, chez celle-ci et chez l'enfant, de maladies inapparentes.

Ainsi nous voyons confirmées expérimentalement les observations faites sur le typhus tunisien.

P. GIROUD a pu appliquer toutes ces notions à la fabrication actuelle du vaccin antityphique. Avant l'inoculation les lapins subissent une anesthésie générale à l'éther, qui abaisse leur résistance pulmonaire ; après l'inoculation par injection intra-trachéale, les lapins sont remis dans leurs cages respectives et transportés dans une pièce réfrigérée à + 5°. Le lendemain de l'inoculation et les jours suivants, si les réactions de l'animal ne le font pas juger inutile, il est soumis à une injection quotidienne intrapéritonéale de 2 à 5 cc. de T. A. B. chauffé, qui agit par choc et par appel leucocytaire. L'animal, abattu, apathique, immobile, ne s'alimente pas et meurt vers le cinquième ou sixième jour.

Le terrain se montre donc d'une importance toute particulière dans l'épidémiologie et dans l'évolution du typhus et son influence ne doit pas être négligée au cours de la lutte contre une épidémie.

Nous venons de mettre en évidence les modifications du sujet vis-à-vis du virus ; il peut également y avoir des modifications du virus en fonction du terrain sur lequel il est inoculé.

Il est possible que, par des passages en série sur des animaux non encore essayés ou par des cultures sur milieux particuliers, l'on puisse obtenir une *mutation* du virus, telle que tout en gardant ses propriétés vaccinales, il perde son pouvoir pathogène pour l'homme.

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

IMMUNITÉS HÉRÉDITAIRE ET DE RACE

Nous pouvons continuer à considérer les typhus comme s'ils formaient un bloc.

Dans les conditions expérimentales, le typhus passe de la mère au fœtus par voie placentaire. Les femelles pleines inoculées par un virus typhique quel qu'il soit, avortent. On a infecté des cobayes femelles près du terme; dans ce cas, elles mettent bas normalement ; NICOLLE et BLAIZOT (119), COMBIESCO (34), constatent que le sang et les organes des nouveaux-nés sont virulents.

Par ailleurs, l'inoculation d'un virus actif à des cobayes issus de mère fortement immunisée provoque chez eux la même affection que chez des cobayes témoins.

La transmission héréditaire de l'infection typhique ne semble donc pas jouer un rôle important pour la conservation du virus, quel qu'il soit (P. LEPINE, 97). L'infection placentaire du nouveau-né joue peut-être un rôle dans l'établissement d'une immunité chez certaines populations, mais cette immunité héréditaire semble être minime à côté de l'immunité apportée par les affections inapparentes.

Pour quelques auteurs, ces constatations n'excluent pas l'acquisition d'une immunité relative chez les descendants de plusieurs générations de cobayes, mâles et femelles, ayant reçu des inoculations répétées de virus typhique; mais aucun fait précis n'a encore été apporté dans ce sens.

C'est en effet, écrit Ch. NICOLLE (*loco cit.*) un fait indiscutable que le typhus exanthématique, lorsqu'il sévit de façon répétée dans une même région, sur de mêmes populations malpropres, s'y montre moins grave pour la population autochtone que pour les individus immigrés. C'est ainsi que l'on peut expliquer la résistance plus grande des races exposées depuis des siècles à la contagion, et celle des enfants nouveau-nés. Autrefois, le typhus sévissait à l'état endémique en France, et la mortalité était faible : le progrès et l'hygiène l'ont fait disparaître. Quand maintenant, un Français contracte le typhus en pays étranger, il le fait sous une forme sévère et souvent mortelle.

La virulence du typhus n'a donc pas diminué pour l'espèce humaine, puisque les races qui ont perdu le contact avec lui se montrent d'une très grande sensibilité à son atteinte : quand une race est moins sensible, c'est qu'elle s'est adaptée au virus et, progressivement, immunisée par un contact long et ininterrompu.

La constatation d'une immunité persistante après la guérison d'une première atteinte, a conduit à rechercher des modes d'immunisation provoquée, soit par une infection expérimentale, soit par une vaccination.

CHAPITRE II

IMMUNITÉ NATURELLEMENT ACQUISE

Les malades et les animaux guéris du typhus sont vaccinés et ils deviennent réfractaires à une réinfection ; classiquement on admet qu'une infection typhique chez l'homme confère une immunité solide et ne récidive pas. Toutefois, on a souvent constaté que si les sujets ne vivent pas dans une région où le typhus sévit à l'état endémique et où, par conséquent, une réinfection continuelle peut entretenir l'immunité, leur sensibilité aux affections typhiques réapparaît.

On a remarqué également que le typhus murin, plus bénin donne une immunité moindre et expose à des récidives plus fréquentes. Les mêmes observations ont pu être relevées chez l'animal.

Comme l'homme, le cobaye immunisé peut présenter soit une immunité absolue, soit une immunité apparente qui se traduira par une affection inapparente ou une affection abortive.

La notion de l'affection inapparente est due à NICOLLE (117) qui la définit « une maladie, d'ordinaire aiguë, qui a son incubation, son évolution caractérisée par le pouvoir infectant du sang ou de tout autre organe, sa guérison, et qui laisse à sa suite une immunité plus ou moins durable. » Il l'oppose à la forme latente, état subaigu ou chronique dans laquelle le porteur conserve sans en souffrir le germe d'une maladie dont il a pu souffrir auparavant ; ce germe est susceptible de reprendre de la viru-

lence pour le porteur de germe lui-même ou de se transmettre. Les formes inapparentes appartiennent presque toutes aux septicémies ; pour Ch. NICOLLE elles représenteraient « un stade de dégradation, d'effacement de la maladie. »

RAMSINE (144), étudiant un foyer de typhus, reconnut vivants au milieu des malades, des sujets apparemment sains hébergeant le virus typhique ; ce fut la première confirmation clinique de la maladie inapparente. Dans les pays d'endémie typhique, de nombreux sujets sains présentent une réaction de Weil-Félix positive (KRAUS, 87) qui traduit soit une immunité acquise par une affection antérieure, soit un état réfractaire datant de l'enfance. Le sang de ces sujets est infectieux et contamine les poux placés sur eux ; ces individus contribuent donc inconsciemment à l'entretien et à la diffusion de l'épidémie. (KRAUS, 86), KUTEISCHIKOW, DOSSER et BERNHOFF (89) ont pu réaliser huit passages d'homme à homme par infection inapparente en nourrissant des poux sains sur des sujets immuns en incubation d'affection inapparente, puis en les transportant sur d'autres sujets. La réaction de Weil-Félix est positive dès le quatrième jour après la contamination par le pou infecté. Une affection inapparente de l'homme ne l'empêche pas toujours de présenter par la suite une affection apparente à l'occasion d'une réinoculation s'il se trouve alors en état de moindre résistance (CUICA, BALTEANU et CONSTANTINESCO, 32). De nombreux auteurs ont mis en évidence les affections inapparentes de l'homme en milieu épidémique (BARYKINE, MINERVINE et KOMPANEEZ, 6). L'enfant en particulier présente fréquemment de ces affections ; c'est ainsi que, en 1935, AFANASSIEWA et TRETJAK (1), constatent que, sur 65 enfants examinés dans un foyer d'infection 12,5 % ont un sang infectieux et 33 % une réaction de Weil-Félix positive. Chez l'homme, dans les foyers du bled tunisien, sur 73 individus examinés, GIROUD (63) a trouvé 5 réactions de Weil-Félix positives ; 3 sur 27 présentaient du virus

dans leur sang. STEUER (156) étudiant l'épidémie qui sévit actuellement en Pologne, apporte des résultats extrêmement intéressants ; sur 879 personnes étudiées, 206 examens furent positifs ; si on déduit les malades et les convalescents, 8 % des examens sont positifs, traduisant des typhus ambulatoires ou inapparents.

L'infection inapparente de l'homme constitue donc le réservoir où peut s'entretenir l'endémie typhique, et d'où repartira l'épidémie lorsque les circonstances diminueront la résistance individuelle de la population (CIUCA, BALTEANU et CONSTANTINESCO, 33), SUAREZ, PALACIOS, CHAVEZ et SESNIC (158).



TROISIEME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

IMMUNITÉ LOCALE ET IMMUNITÉ GÉNÉRALE (98 bis)

Quand on vaccine un organisme vivant, il se produit une série de phénomènes biologiques qui aboutissent à la création d'un état réfractaire vis-à-vis du germe contre lequel on a vacciné. Où se produisent ces phénomènes ? S'agit-il de phénomènes généraux qui surviennent dans l'ensemble de l'organisme ? S'agit-il au contraire, de réactions locales, qui se déclenchent dans certains tissus, ou dans le système réticulo-endothélial, et qui, par la suite, distribuent à l'organisme entier les propriétés nouvellement acquises ?

Comment l'état réfractaire s'établit-il dans le cas d'une immunité locale ? Existe-t-il dans l'organisme des cellules spécifiquement sensibles ? Les éléments spécialisés pour la défense, les leucocytes, par exemple, ont-ils un rôle à jouer ? Existe-t-il des anticorps tissulaires ?

L'étude expérimentale du typhus nous a donné l'occasion d'observer des maladies locales chez l'animal et d'étudier par la suite son comportement lors d'un nouveau contact avec le germe.

I. — INOCULATION DE RICKETTSIES DANS L'ŒIL DU LAPIN.

Les conjonctives soumises à des irritations et à des infections constantes sont la porte d'entrée de nombreux germes pathogènes dans l'organisme ; en particulier il semble bien que la plupart des contaminations typhiques de laboratoire se fassent par cette voie. Aussi a-t-on tenté depuis longtemps l'inoculation du virus typhique dans l'œil.

En 1930, NAGAYO et ses collaborateurs (114) inoculent dans la chambre antérieure de l'œil du lapin les virus du tsutsugamushi et du typhus ; après une inoculation de 4 à 8 jours, ils constatent une kératite avec iritis, sans température, mais avec multiplication du virus dans le sang et dans la rate. La réaction locale de l'œil persiste pendant plus de 20 jours et se termine par la résolution. Chez le lapin BRUMPT (21), LEPINE (97), LEMOS MONTEIRO (96) ont observé la même réaction avec le typhus historique, le typhus murin, la fièvre pourprée des montagnes rocheuses ; POLEFF, REIS et HERZIG (141) ont montré que deux espèces de rickettsies non pathogènes pour l'homme, *R. pediculi* et *R. rocha-lima* n'infectent pas l'œil du lapin.

L'irido-cyclite obtenue peut se reproduire chez tous les animaux et n'est pas influencée par l'immunité naturelle ou provoquée (BLANC et MARTIN (19) ; elle ne vaccine pas contre une nouvelle atteinte locale ou générale.

II. — REACTIONS CUTANÉES LOCALES.

Déjà en 1936, GIROUD et PLOTZ (78), étudiant les réactions du cobaye à l'inoculation de cultures de virus typhique murin en fonction des voies d'introduction, constatent que l'on provoque par la voie cutanée une immunité remarquable avec des réactions minimales. Les mêmes recherches, conduite sur différents animaux, permettent à P. GIROUD (loc. cit.) de conclure que l'animal inoculé

fait ou ne fait pas de réaction locale suivant qu'il est peu sensible ou très sensible à la maladie générale; il apporte à l'appui le tableau ci-dessous :

Animal d'expérience	Réaction cutanée locale	Maladie générale
Souris	0	Mortelle.
Rat	0	Souvent mortelle.
Cobaye	+	Fièvre importante.
Lapin	++	1 à 2 jours de température normale.

Nous avons étudié le comportement du lapin vis-à-vis d'une injection locale de suspensions de rickettsies, et nous avons pu constater les faits suivants:

Inoculés sous la peau avec des doses de 0 gr. 50 environ de poumon de lapin infecté, les lapins font une réaction fébrile avec une longue incubation ; la tumeur, discrète, tend à diffuser et à disparaître en 4 à 8 jours.

Avec des doses considérables (4 à 5 gr.) on obtient une maladie sans incubation, provoquant un œdème local qui ressemble à l'œdème charbonneux ; l'examen histologique de cet œdème permet de mettre en évidence quelques rickettsies et de nombreuses cellules présentant des vacuoles disposées en nid d'abeilles dans leur protoplasma. La lésion locale évolue vers la nécrose et la suppuration. Sur quatre lésions étudiées, deux fois nous avons mis en évidence dans le pus des proteus; une fois du bacille de Friedlander et une fois un anthracoïde. Les proteus isolés ne sont pas agglutinables par le sérum de convalescents de typhus. D'autre part, le sérum de ces lapins, prélevé entre quinzième et le quarantième jour de la maladie n'agglutine pas les proteus OX 19, OX 2, OX K, OX L et les proteus des lésions. Mais les animaux étudiés se montrent immunisés contre une infection par voie intraveineuse, provoquée de dix à trente jours après l'inoculation sous-cutanée.

Comment se comporte un lapin vis-à-vis de réinoculations locales successives ? Quelle est la virulence des nodules d'inoculation ? La peau ainsi inoculée est-elle douée d'un pouvoir neutralisant ?

Réinoculations successives.

Après une première inoculation intradermique de suspensions pures de rickettsies (dilutions de virus comprises entre $1/25^e$ et $1/1000^e$ de l'exsudat vaginal riche en rickettsies d'un cobaye pesant au moins 500 gr. sacrifié au premier jour de la périorchite), à des lapins, P. GIROUD (69) les réinocule sur le même flanc, au bout de différents laps de temps, avec les mêmes doses de virus. Pendant 12 à 15 jours, les réactions deviennent beaucoup moins intenses, puis du 20^e au 40^e jour, la réaction locale devient de plus en plus intense, au moins égale en intensité à la première inoculation ; mais cette réaction est d'emblée nodulaire, bien limitée, violâtre. Ces réinoculations pratiquées après le quarantième jour se maintiennent avec les mêmes caractères au moins jusqu'au 300^e jour, puis semblent diminuer un peu d'intensité.

Virulence des nodules.

Il était intéressant de suivre la virulence de ces nodules au cours des réinoculations pour préciser leurs caractères. La première inoculation correspond cliniquement à une infection cutanée, tandis que les réinoculations se comportent comme des réactions de défense ou de sensibilisation.

Pour doser la virulence des nodules, P. GIROUD prélève aseptiquement les fragments de peau ou de nodule à étudier, les conserve à — 25° pendant le contrôle de stérilité, puis les débite au microtome à congélation. A partir de ces coupes, il prépare des suspensions déterminées qui sont injectées dans le derme du lapin neuf, soit

directement, pour doser la virulence, soit après un contact variable avec du virus pour évaluer leur pouvoir neutralisant.

P. GIROUD a pu, d'autre part, relever des résultats suivants (68) : les nodules de primo-inoculation prélevés au cinquième jour, inoculés dans le péritoine du cobaye, provoquent de la température avec périorchite et multiplication des rickettsies.

Nous avons pu dans la tumeur d'un de nos lapins inoculer par voie sous-cutanée, mettre en évidence les rickettsies. Nous avons inoculé par voie nasale aux souris 5547 et 5548 environ 30 centigrammes de la tumeur du lapin 982, prélevée au quatrième jour et broyée dans de l'eau physiologique ; ensemencée cette tumeur n'a pas donné lieu à une culture. Les souris, sacrifiées au sixième jour avaient des poumons normaux, mais l'examen a permis d'y trouver quelques rickettsies ; nous avons passé la souris 5548 aux souris 5555 et 5556, et nous avons obtenu chez celles-ci une abondante culture de rickettsies dans le tissu pulmonaire au douzième jour.

Les nodules de deuxième inoculation (inoculation pratiquée quinze jours après la première) ne provoquent chez le cobaye qu'une légère réaction thermique sans périorchite.

Les cobayes ayant reçu dans le péritoine des nodules de troisième inoculation font de la fièvre et une périorchite ; l'examen microscopique montre la présence de cellules de Mooser.

Les cobayes inoculés avec la suspension de nodules dus à une sixième inoculation et prélevés, comme dans chaque expérience, au cinquième jour, ne font ni fièvre ni orchite.

La virulence des nodules est donc minime, et tend à baisser au cours des réinoculations successives.

Pouvoir neutralisant de la peau.

L'affaiblissement progressif de la virulence des nodules dermiques a conduit P. GIROUD à rechercher le pouvoir neutralisant de la peau de ces lapins inoculés en comparaison avec de la peau de lapins normaux. Il a constaté que la peau prélevée trois jours après une première inoculation présente déjà un certain pouvoir neutralisant et que celui-ci devient très important dès la deuxième inoculation ; cette propriété s'accroît progressivement et la peau d'un lapin inoculé six fois est douée d'un pouvoir neutralisant aussi net que celui d'un sérum anti.

Il existerait donc, au moins chez l'animal sensible à l'inoculation intradermique de virus typhique un processus de défense locale très important contre l'infection typhique. Aussi P. GIROUD (72) envisageait-il comme une solution d'avenir possible une vaccination intradermique, d'autant plus que le typhus transmis par les poux a le plus souvent une porte d'entrée dermique.

P. GIROUD (70) a retrouvé les mêmes résultats avec les virus de la fièvre pourprée et de la fièvre boutonneuse.

III. — REACTION DU CERVEAU AUX VIRUS TYPHIQUES.

Après l'infection des muridés par le typhus exanthématique le virus persiste toujours dans l'encéphale des animaux inoculés ; pour le typhus historique on n'a pu le prouver que pendant 20 à 30 jours, avec les virus murins, il se retrouve après 40 jours. L'infection cérébrale soit par inoculation directe, soit par maladie générale, s'accompagne d'un état d'immunité qui persiste longtemps. Le pouvoir neutralisant du cerveau n'a pas été étudié jusqu'à présent.

IV. — REACTION DU PERITOINE.

La cavité péritonéale a toujours été le point d'inoculation de choix pour les expérimentateurs; tout en offrant en effet les mêmes facilités que le sang pour les examens microscopiques, le contenu péritonéal présente en outre d'autres avantages : absence d'hématies qui gênent l'étude des réactions leucocytaires, cavité close qui permet de suivre le sort des germes jusqu'à leur disparition, très grande sensibilité à la plupart de germes. L'inoculation intra-péritonéale est suivie d'une immunité locale qui rapidement fait place à une immunité générale.

Infecté par voie intrapéritonéale avec un virus quelconque le cobaye, après une incubation de 3 à 6 jours, fait une maladie avec courbe thermique caractéristique : la guérison survient en 8 à 10 jours, suivie d'une immunité durable.

V. — REACTION PULMONAIRE.

SPARROW et LUMBROSO (154) étudiant l'effet de l'inoculation nasale de virus typhique aux animaux, observent des réactions générales, mais ne recherchent pas les lésions pulmonaires.

En 1937, OKAMOTO (131) inoculant la souris par voie péritonéale avec les virus murins et historiques, constate que le poumon est plus riche en cellules infectées que le foie, la rate et le cerveau.

Les premières expériences décisives sont dues à CASTANEDA (29) qui utilise pour ses inoculations une émulsion de vaginales de cobayes infectés de typhus mexicain; il inocule cette émulsion sous anesthésie générale à l'éther à la dose de 0,2 cc. par voie nasale chez la souris et le rat, à la dose de 8 à 10 cc. par voie trachéale chez le lapin. La souris meurt en hypothermie au quatrième jour et ses poumons sont entièrement hépatisés.

P. DURAND et H. SPARROW (47) publient en 1940 des

recherches du même ordre effectuées à l'aide des virus murin et historique, et obtiennent des résultats semblables.

L'inoculation de virus boutonueux donne les mêmes résultats chez la souris et le mériion. De même P. DURAND, P. GIROUD et H. SPARROW (46) obtiennent des lésions semblables, avec le virus de la fièvre pourprée chez la souris, le mériion et le lapin. L'affection reste localisée au poumon.

Les animaux ainsi traités ont des poumons très virulents et très riches en rickettsies qui permettent le passage continu du virus sur une même espèce.

Un lapin qui a survécu à une inoculation intra-trachéale est vacciné contre une infection générale ultérieure; il est vrai que la maladie pulmonaire du lapin est une affection très grave.

VI. — COMPORTEMENT DU LAPIN VIS-A-VIS D'UNE INJECTION INTRAVEINEUSE D'UNE SUSPENSION DE RICKETTSIA PROVAZEKI.

Par opposition, nous avons voulu étudier le comportement du lapin vis-à-vis de l'infection générale par voie intraveineuse. Nous utilisons comme matériel infectieux une suspension de rickettsies obtenue à partir des poumons d'un lapin infecté par voie trachéale et sacrifié au cinquième jour de l'évolution de la maladie. Cette suspension est purifiée par des centrifugations fractionnées. L'injection se fait lentement, dans la veine marginale de l'oreille. Au cours des quelques minutes qui suivent l'injection, le lapin présente des phénomènes de choc, avec polypnée, tachycardie, battement des ailes du nez. Ces phénomènes, dus à la présence dans la suspension d'extraits pulmonaires, sont complètement disparus au bout de dix minutes. Ils se produisent de la même façon chez des lapins témoins, inoculés avec une suspension obtenue à partir de poumons normaux. Ils nous conduisent à la

notion d'une dose limite d'extrait injectable variant entre 6 et 12 centigrammes quelle que soit la dilution de la suspension.

Six lapins sur dix ont fait une maladie générale, évoluant en 8 à 9 jours, avec ascension de la courbe thermique et perte de poids. Dès le lendemain de l'inoculation, la température est à 40°; elle atteint 41° le troisième jour, puis présente une petite rémission de 24 heures environ; le cinquième jour la courbe présente un clocher à 40° ou 41°, puis elle descend progressivement vers 39°. Au huitième ou au neuvième jour tout rentre dans l'ordre. Au cours de cette évolution le lapin maigrit de 300 à 500 grammes.

Vers le troisième jour, la plupart des lapins présentent des phénomènes généraux, diarrhée, hyperesthésie, réaction méningée (certains lapins ont présenté de la raideur, le lapin 903 présentait une catatonie typique). Ces phénomènes s'estompent progressivement en trois ou quatre jours. Deux de nos lapins sur dix ont présenté au cinquième jour une réaction cutanée: le lapin 132 avait sur le flanc gauche trois taches rosées, qui ont persisté trois jours; le lapin 904 était couvert d'un fin piqueté hémorragique au sixième jour, et est mort au neuvième jour. D'autres lapins font une maladie inapparente qui se traduit seulement par une chute de poids importante. L'autopsie de ces lapins aux différentes dates d'évolution de la maladie, ne montre rien de particulier.

Nous avons étudié la réaction de Weil-Félix dans le sang de ces lapins; elle est négative au cours de l'évolution de la maladie; sur du sang prélevé vers le 20^e jour, elle est généralement positive au 1/50^e pour OX 19. Ces lapins inoculés une seconde fois par voie veineuse de 20 à 40 jours plus tard ne présentent aucun signe pathologique. Le lapin semble donc capable de faire une maladie générale à rickettsies. Ajoutons que les lapins témoins inoculés avec une suspension obtenue à partir de poumons normaux, ont un comportement parfaitement

normal — sans élévation de température, ni chute de poids, ni phénomènes généraux.

Il serait prématuré avec ces éléments encore imprécis, de tenter d'expliquer le processus de l'établissement de l'immunité dans l'organisme. Nous avons suivi à l'examen microscopique l'évolution des rickettsies dans le poumon de lapin en fonction du temps ; après l'inoculation, il y a une première phase de réaction locale ; les rickettsies sont agglutinées et phagocytées par les polynucléaires ; tandis que certaines disparaissent, d'autres se groupent dans le protoplasma en corps arrondis que P. GIROUD et R. PANTHIER (76) considèrent comme des formes de résistance des rickettsies ; lorsque la résistance est vaincue, on voit disparaître ces éléments et apparaître les rickettsies classiques, qui envahissent le milieu interstitiel. Les cellules qui les avaient hébergées présentent un aspect caractéristique, en nid d'abeilles ou en mie de pain, aspect dû à la présence de nombreux espaces clairs occupés auparavant par les corps arrondis dont nous venons de parler.

A partir de ce moment survient la seconde phase, de généralisation de l'immunité.

A l'appui de ces faits nous avons obtenu les résultats ci-contre, encore très incomplets ; d'autres recherches sont en cours ; ces résultats mettent en évidence l'établissement de l'immunité chez le lapin, quel que soit le mode d'inoculation ; notons en particulier l'agglutination obtenue avec une souche hétérologue, après inoculation par voie trachéale.

AGGLUTINATION DES RICKETTSIES CHEZ LE LAPIN

Lapins n°	Vote d'inoculation	Dose inoculée	Temps écoulé entre l'inoculation et le prélèvement du sérum	Souche inoculée	Taux de la réaction vis-à-vis d'une souche H S P
131	I.V.	0,17 g.	22 jours	1680 H S P	80
132	I.V.	0,06 g.	22 jours	1680 H S P	160
903	I.V.	0,12 g.	23 jours	1821 H S P	320
688	I.V.	0,06 g.	5 jours	2491 H S P	640
663	I.V.	0,045 g.	24 jours	2441 H S P	160
662	I.V.	0,06 g.	24 jours	2441 H S P	320
578	I.T.	0,50 g.	13 jours	2094 W	640
671	S.C.	3 g.	21 jours	2474 H S P	640
590	I.V.	0,06 g.	24 jours après la deuxième inoculation	2082 H S P	80
	I.V.	0,045 g.		2441 H S P	
896	I.V.	0,06 g.	id.	2063 H S P	80
	I.V.	0,045 g.		2441 H S P	
301	I.P.	6 g.	id.	2126 H S P	320
	I.V.	0,045 g.		2441 H S P	
951	S.C.	5 g.	id.	2218 H S P	1280
	I.V.	0,045 g.		2441 H S P	
Témoins					
688	I.V.	0,06 g.	10 jours	poumon normal	0
991	I.V.	0,06 g.	29 jours	poumon normal	0
687	I.V.	0,06 g.	10 jours	poumon normal	0

CHAPITRE II.

IMMUNITÉ CROISÉE

Des auteurs ont pu penser, à un certain moment, que la forme ancestrale des rickettsies était représentée par les bacilles du groupe proteus, forme saprophyte à l'origine, qui aurait évolué progressivement jusqu'à donner les agents actuels du typhus.

Les rickettsies représentent un groupe de maladies distinctes, dues chacune à un germe propre. Quelle parenté y a-t-il entre ces germes dérivant d'une même souche ancestrale ? Peut-on passer de l'un à l'autre, sous l'influence de divers facteurs ?

Certaines rickettsioses sont indiscutablement distinctes les unes des autres — par exemple le typhus exanthématique et la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses ; d'autres, tels le typhus épidémique et le typhus murin, sont très voisins et jusqu'à ces temps derniers, on a beaucoup discuté la possibilité du passage de l'un à l'autre.

Des auteurs, en effet, admettent une grande instabilité des souches, qui seraient très sensibles à de nombreux facteurs. C'est ainsi que MOOSER fait de la souche de Mexico (tabardillo) un virus intermédiaire entre les virus épidémique et murin. BLANC a montré qu'il s'agissait d'une souche murine.

Pour BLANC, les virus ont une stabilité « ne varietur ».

Ils sont murins ou épidémiques, mais ils ne passent pas de l'un à l'autre. Il traduit cela par la formule :

$$V = v \pm x$$

dans laquelle V désigne le virus vrai, tel qu'il est; v, virus observé, est variable ; ses variations sont dues au $\pm x$, facteur personnel du sujet récepteur, conditionné par le mode de vie, la santé, le climat, le milieu, l'alimentation. C'est ce $\pm x$ qui donne l'illusion d'une variation de souches; c'est lui qui, par exemple, explique la vaginalité du cobaye observée parfois avec le typhus épidémique. Cette vaginalité serait, en effet, une réaction étrangère, mécanique, due à la présence massive de germes et de débris organiques étrangers.

Quels critères vont nous permettre de différencier les virus, et d'établir leurs liens de parenté ?

Nous en avons actuellement trois à notre disposition : la maladie expérimentale, les agglutinations croisées et l'immunité croisée.

Nous connaissons déjà la maladie expérimentale ; chaque rickettsiose se traduit chez l'animal de laboratoire inoculé, par une affection plus ou moins typique qui la caractérise.

Du point de vue des agglutinations croisées les résultats ont permis de classer les rickettsioses en plusieurs groupes. Vers 1930, FLETCHER, LESSLAR et LEWTHWAITE (49) distinguent deux groupes de fièvres exanthématiques. La forme W, qui agglutine la souche proteus X 19 de Varsovie, mais n'agglutine pas la souche non indologène X « Kingsbury » de l'Institut Lister ; la forme K, cliniquement semblable au tsutsugamushi, agglutine la souche « Kingsbury ».

Des connaissances plus récentes ont amené OTTO et WOHLRAB (135) à classer les fièvres exanthématiques en quatre groupes, chacun étant, en gros, caractérisé par l'agglutination d'une souche particulière. (Voir tableau.)

1°) Le typhus épidémique transmis par les poux, agglutine les souches OX 19 et OX 2.

2°) Le typhus endémique ou murin, moins pathogène pour l'homme agglutine également OX 19 et OX 2.

3°) Le groupe des fièvres transmises par les tiques, Fièvre des Montagnes Rocheuses et autres, agglutine les souches OX L.

4°) Le groupe du tsutsugamushi, transmis par les trombicula, agglutine les souches OX K.

Dans chaque groupe toutes les affections agglutinent les mêmes souches. D'un groupe à l'autre, il est à remarquer que les typhus épidémiques et murins, qui ont beaucoup d'autres points communs, agglutinent électivement les mêmes souches de *Proteus*. Par contre, les deux autres groupes se différencient nettement.

5°) A côté de ces groupes, il faut ajouter la fièvre de Wolhinie et la fièvre Q, dont l'immunologie est encore très mal connue.

La constatation de ces faits a conduit à étudier les immunités croisées entre groupes ; l'attention des chercheurs a été attirée surtout par les caractères communs aux groupes épidémiques et endémiques et par la coexistence de différentes affections typhiques dans un même pays. MOOSER (109), puis MOOSER, CASTANEDA et ZINSSER (110) tout en considérant le typhus mexicain comme une variété du typhus exanthématique constatent qu'il vaccine contre le virus d'Afrique et que, réciproquement, ce virus protège du tabardillo.

En 1933, NICOLLE écrit que les virus typhiques murin et historique, vaccinent les uns contre les autres ; en 1935, il montre que les différents typhus nord-africains vaccinent les uns contre les autres ; en 1933-1934 P. LE PINE (98) étudie l'immunité croisée des différentes fièvres exanthématiques en Grèce ; il a recherché l'immunité croisée entre les souches murines et le typhus exanthématique, l'immunité croisée entre la fièvre bouton-

neuse et les typhus. Les résultats obtenus le conduisent aux conclusions suivantes:

1°) Le virus provenant de l'encéphale des rats d'Athènes, du Pirée, de Beyrouth, des navires de guerre, de même que les virus isolés des puces du rat sont identiques et immunisent les uns contre les autres.

2°) Les souches humaines athéniennes provenant de cas de typhus endémiques immunisent le cobaye, à la fois contre la souche Nicolle (typhus épidémique) et contre les souches murines balkaniques et réciproquement les cobayes ayant subi une atteinte de l'une ou l'autre de ces souches sont réfractaires au typhus épidémique.

Les expériences d'immunité croisée ne suffisent donc pas à préciser l'origine murine ou épidémique d'un cas de typhus chez l'homme.

3°) La fièvre boutonneuse est une maladie individualisée, différente des typhus épidémique ou endémique, auxquels ne l'unissent que de lointaines relations de groupe.

Déjà, en 1928, BURNET, DURAND et OLMER (23) par des expériences d'immunité croisée sur le singe, avaient nettement séparé typhus et fièvre boutonneuse. P. LEPINE montre que le cobaye ayant réagi récemment à la fièvre boutonneuse présente pendant un court laps de temps une immunité très relative vis-à-vis du typhus exanthématique. Cependant ainsi que l'ont établi LEPINE et CAMINOPETROS (100) le sérum des individus ayant contracté la fièvre boutonneuse à la suite d'une infection naturelle ou expérimentale est dépourvu d'anticorps neutralisant les virus typhiques ; par contre, le sérum des convalescents de typhus exanthématique ou épidémique renferme des anticorps neutralisant in vitro et in vivo n'importe quel virus du typhus.

NETTER et BLAIZOT, de leur côté, ont montré que les virus africains et la maladie de Brill vaccinent les uns contre les autres.

En résumé, de très nombreuses études ont montré à la fois la spécificité du typhus exanthématique et les multiples caractères qui l'unissent aux maladies dont on s'est appliqué à le différencier ; typhus murin, fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses, fièvre boutonneuse, tsutsugamushi, fièvre de Wolhinie. Il est donc logique de réunir, comme l'a proposé Ch. NICOLLE, l'ensemble de ces rickettsioses, qu'unit une parenté indiscutable, sous le terme de « fièvres exanthématiques ».

En fait, il y a en bien des points du monde coexistence de ces affections rickettsiennes, d'où l'intérêt tout particulier de l'étude de l'immunité croisée dans les rickettsioses.

QUATRIEME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

IMMUNISATION PASSIVE

I. — SERUM DE CONVALESCENTS.

En 1895, deux médecins d'Algérie, E. LEGRAIN (95) et Lucien RAYNAUD (145) remarquent que le sérum de convalescents de typhus a des propriétés curatives vis-à-vis de la maladie. En fait, Ch. NICOLLE et CONSEIL (121) démontrent expérimentalement sur le singe et sur le cobaye, que le sérum humain n'a que des propriétés préventives ; s'il est injecté avant les premiers symptômes, il empêche la maladie ; dans quelques cas il peut atténuer la gravité de l'affection. Le pouvoir protecteur du sérum humain atteint son maximum entre le sixième et le vingtième jour après la défervescence ; il commence à fléchir dès la quatrième semaine (WEIL, BREIN et GRUSCHKA, 164). Expérimentalement, il exerce une action protectrice sur l'infection du cobaye (DERR, SCHNABEL et VOCHTLING) (40) à condition d'être injecté peu après l'inoculation.

Au point de vue prophylactique, le sérum de convalescents présente une valeur indiscutable ; des individus en imminence de typhus à la suite de contaminations cer-

taines (contaminations de laboratoire avec des poux infectés) sont préservés soit avec une dose unique de 20 cc. de sérum de convalescent, soit avec deux doses administrées à quelques jours d'intervalle. La méthode est donc précieuse, mais d'application restreinte.

Au point de vue thérapeutique, le sérum de convalescents a été souvent utilisé, mais sans résultats appréciables. Toutefois, P. DURAND (41) rapporte des résultats encourageants en administrant le sérum par voie intrarachidienne ; ces résultats n'ont pas été confirmés.

Ed. SERGENT (150) en 1939 conseille la technique ci-dessous au sujet de la prévention du typhus exanthématique par le sérum de convalescents :

« En temps d'épidémie et dans les foyers endémiques de typhus exanthématiques, toute piqûre de pou est suspecte.

Il est conseillé d'injecter par voie sous-cutanée le plus tôt possible après la piqûre, 10 cc. de sérum de convalescents de typhus exanthématique. L'immunisation est immédiate et dure de 2 à 3 semaines.

Aucune réaction notable n'a été signalée à la suite de cette injection. Il n'y a pas à craindre de choc anaphylactique ni d'urticaire puisqu'il s'agit d'un sérum homologue. Des injections peuvent être répétées sans danger à n'importe quel intervalle. »

Mais il est difficile de récolter de grandes quantités de sérum chez des convalescents de typhus, toujours très faibles, aussi l'emploi de ce sérum doit-il être très limité.

II. — SERUMS D'ANIMAUX.

Les propriétés des sérums humains ont poussé les chercheurs à préparer des sérums d'animaux, plus faciles à se procurer et plus abondants.

En 1916, Ch. NICOLLE et BLAIZOT (120) ayant inoculé

à plusieurs reprises un âne par voie intra-veineuse avec des suspensions de surrénales de cobayes infectés de typhus historique, obtiennent un sérum protecteur vis-à-vis de la maladie expérimentale. Ce sérum fut expérimenté avec succès sur l'armée serbe d'Albanie évacuée sur Bizerte (1917) ; les sujets ayant reçu du sérum se trouvèrent prémunis. Parmi les malades traités on put constater des symptômes cérébraux atténués, la disparition de la stupeur ; il n'y eut pas de décès. Mais par la suite les bons résultats de ce sérum ne se maintiennent pas. Pensant que l'âne ainsi inoculé faisait un typhus inapparent, Ch. NICOLLE essaya de vaincre sa résistance naturelle en l'inoculant par différentes voies ; il obtint un typhus fébrile de quatre jours mais les résultats ne furent pas meilleurs.

De nouveaux essais de NICOLLE et CONSEIL (1925) (122), puis de BLANC et MARTIN avec le virus murin ne permettent également d'obtenir qu'un sérum perdant rapidement ses propriétés après la chute de la courbe fébrile de l'animal.

MOSING, par l'inoculation d'intestins de poux à la brebis, obtient un sérum qui, injecté à la dose de 20 à 30 cc. donne de bons résultats préventifs et une atténuation des symptômes de la maladie.

ZINSSER et RUIZ CASTANEDA (171) obtiennent de bons résultats avec un sérum de cheval inoculé par voie intra-veineuse avec des suspensions de rickettsies venant de rats irradiés infectés de virus mexicain. Au Mexique, ce sérum aurait même une valeur curative, (BUSTAMENTE, VARELA et BOSQUE PICHARDO) (24), BUSTAMENTE, VARELA et NERI) (25) ; P. GIROUD (54) qui l'a éprouvé, conclut que « le sérum antityphique de ZINSSER injecté sous la peau à des époques variées après l'inoculation virulente, a protégé d'une façon imparfaite les cobayes inoculés dans le péritoine avec le sang de cobayes de passages du typhus historique Tunis Rabta.

Ce même sérum, inoculé en trois fois et assez tardivement, a protégé d'une façon absolue une série d'animaux inoculés avec de petites doses de cerveau virulent de ce même virus ; la protection a été moins parfaite pour des cobayes ayant reçu une dose plus élevée. »

P. DURAND et BALOZET (1940) (42) à l'Institut Pasteur de Tunis, ont immunisé des chevaux et des ânes en leur inoculant par voie sous-cutanée ou veineuse des poumons infectés de virus historique et murin. Le pouvoir agglutinant de ces sérums vis-à-vis du *Proteus* X 19 n'est pas parallèle au pouvoir neutralisant. Ce dernier a été étudié dans le derme de la peau de lapin en se servant du test de séro-protection cutanée, chez le cobaye et le rat en les protégeant contre la maladie expérimentale. L'action neutralisante des sérums de chevaux qui ne peut cependant être jugée d'une façon précise, est de beaucoup supérieure à celle obtenue avec les sérums humains de convalescents.

Sur 120 typhiques indigènes traités par la sérothérapie la courbe thermique a été diminuée de 2 à 4 jours et la mortalité est passée de 14,28 pour 100 à 3,92. Sur des malades européens les résultats n'ont pas été aussi brillants.

Depuis 1940, RAMON, à l'Institut Pasteur de Garches, prépare un sérum sur cheval ; ce sérum, encore à l'étude est doué d'un très bon pouvoir neutralisant.

CHAPITRE II

IMMUNISATION ACTIVE

A beaucoup d'égards les rickettsies font la transition entre les virus et les bactéries banales. Comme les virus en particulier, elles ne poussent pas sur les milieux habituels, et même les tentatives faites pour les obtenir sur tissus n'ont pas permis d'obtenir des cultures abondantes. Ceci explique les difficultés auxquelles se sont heurtés les chercheurs qui ont voulu préparer des vaccins. On s'est adressé successivement à deux procédés :

1°) utilisation de micro-organismes vivants, virulents, à doses faibles, ou de virulence atténuée;

2°) emploi de micro-organismes tués, en grand nombre, afin de provoquer l'apparition d'anticorps suffisants.

A. — VACCINS VIVANTS.

1°) *Groupe des typhus exanthématiques et murins.*

Vaccins non atténués. — Le premier en date un *vaccin virulent*; en 1916, NICOLLE (116) constate qu'une faible dose de virus typhique inoculée au cobaye produit une affection inapparente qui laisse après elle un certain degré d'immunité. Il remarque que les leucocytes sont particulièrement riches en virus. Il lui semble donc possible, d'éliminer ces leucocytes par centrifugation, de

doser la virulence du sang infecté et de préparer ainsi un vaccin utilisable chez l'homme. H. SPARROW (152), en 1924, utilise différentes dilutions de cerveau de cobaye infecté dont le titre en virus est constant; mais l'application à l'homme est peu commode et incertaine (NICOLLE et CONSEIL) (129), TZEKHNOWITZER et PALANT (160).

En 1935, SPARROW (153) puis en 1938-39 SPARROW et MARESCHAL (155) essayent de vacciner l'homme avec du virus murin vivant.

De telles méthodes, tout en exigeant une technique minutieuse et des contrôles rigoureux, ne sont pas sans danger, non seulement pour les individus, mais aussi pour les collectivités. L'application de ces vaccins virulents doit donc être proscrite. Aussi s'est-on attaché à préparer des *vaccins atténués*.

Vaccins atténués.

Vaccin bilié de G. BLANC.

En 1933-34, G. BLANC et ses collaborateurs (14) montrent qu'il est possible d'utiliser avec succès un vaccin vivant à condition qu'il ne soit ni dangereux, ni capable de susciter des porteurs de virus. Ils utilisent une souche de virus murin isolée à Casablanca et ils l'atténuent, comme l'avaient fait BLANC et CAMINOPETROS pour le virus de la dengue, par la bile de bœuf.

La tunique vaginale, la rate et les surrénales de cobayes infectés de typhus murin sont émulsionnées au deuxième ou troisième jour de la maladie dans de l'eau physiologique à une dilution de 1/2000^e environ. Après filtration sur gaze on ajoute à cette suspension de la bile de bœuf stérilisée à raison de 5 parties de bile pour 100 d'émulsion; on laisse en contact pendant cinq minutes, puis on inocule sans délai le mélange dans le muscle deltoïde, à raison de 1 cc. par personne. Chaque cobaye permet de préparer environ deux litres de vaccin.

BLANC et ses collaborateurs (15 et 16) pensent que la première injection de ce vaccin déclenche un état de pré-munition; une seconde dose de virus, pur ou atténué, inoculée vers le douzième jour permet à une immunité relativement forte et prolongée de se développer; c'est ce que BLANC décrit sous le nom de phénomène de pré-séance. En milieu épidémique l'immunité se développe d'elle-même par infection naturelle.

En 1937, BLANC (9) inocule sans incidents dix-neuf personnes avec du virus murin, vingt-cinq jours après la vaccination; six reçoivent alors du virus historique sans inconvénient; six autres personnes inoculées avec du virus historique 1 à 2 mois après la vaccination apportent des résultats favorables.

BONJEAN et NAIN (17) trouvent des réactions de Weil-Félix positives entre 1/25 et 1/500 chez 96 sujets sur 111 vaccinés de 14 à 25 jours après la vaccination. Mais ces résultats n'avaient pas été pratiqués avant la vaccination.

Ce vaccin donne des résultats excellents. BLANC et GAUD (16) rapportent que la vaccination fut pratiquée dans deux villages, dont un fut soumis à l'épouillage; l'épidémie prit fin brusquement dans les deux villages. Plus d'un million de personnes ont été vaccinées au Maroc. GAUD (52) a constaté l'arrêt de l'épidémie dans tous les foyers vaccinés.

Cependant LEPINE (103) reproche au vaccin bilié des réactions vaccinales fébriles en particulier chez l'euro-péen. Au Chili, sur 800 vaccinés, il y a eu 23 % de typhus graves et 5 cas de mort; le virus provenant de ces malades a même été isolé (PALACIOS, CHAVEZ et AVENDANO) (136).

Vaccin de BLANC et BALTHAZARD.

Afin d'éliminer les risques d'accidents et d'obtenir un vaccin de virulence constante, les auteurs (10) préparent un vaccin bilié d'après la méthode suivante:

50.000 puces (*Xenopsylla cheopsis*) sont placées dans un bac et infectées pendant deux semaines, avec une série de rats blancs inoculés 48 heures auparavant avec le virus murin TMC III; ces rats sont remplacés tous les deux jours. A la fin de la quinzaine toutes les puces sont infectées; les rats, après un séjour de 48 heures dans la cuve, sont sacrifiés et épilés, les poils sont desséchés et tamisés sur des soies à bluter, pour recueillir les crottes de puces. Après 30 ou 40 récoltes on peut recueillir environ 10 grammes de crottes. Le produit de la récolte est réparti en ampoules et desséché dans le vide. Au moment de l'emploi on dilue une ampoule de 1 mgr. de virus sec dans 100 cc. de solution biliée tamponnée à pH: 7,4. Le vaccin ainsi préparé doit être utilisé dans l'heure qui suit à la dose de 1 cc. dans le muscle deltoïde.

Les épreuves pratiquées après vaccination montrent que ce vaccin est efficace, sans présenter les inconvénients du vaccin précédent.

Vaccin sec de NICOLLE et LAIGRET.

Ces auteurs (126 et 127) utilisent une technique employée dans la préparation d'un vaccin contre la fièvre jaune pour atténuer le virus en le séchant. Son absorption est retardée en l'enrobant dans du jaune d'œuf et de l'huile.

Des cobayes ou des rats infectés avec la souche murine Tu P I de H. SPARROW sont sacrifiés le deuxième jour de fièvre. Le cerveau après être resté 24 heures dans la glycérine neutre en glacière, est broyé avec 2,5 grammes d'un mélange de 100 grammes de phosphate disodique et de 15 grammes de phosphate monopotassique, puis il est desséché sur le vide à 5° pendant 24 heures en présence de Cl₂ Ca. La poudre obtenue est triturée avec 8 cc. de jaune d'œuf stérilisé, desséchée pendant 24 heures, mise en ampoules scellées sur le vide, ou comprimée dans des tablettes de 20 doses et conservé à — 15° pendant 15

jours au plus. Au moment de l'emploi on dilue la poudre d'une ampoule — soit 1/200^e de cerveau de rat — dans 1 cc. d'huile d'olive stérilisée. On fait deux injections à 25 ou 30 jours d'intervalle.

D'après LAIGRET, DURAND, BELFORT et LEFAUCHEUR (93) il n'y a pas d'accidents sérieux, et la grande majorité des vaccinés présente une affection inapparente ; la réaction de Weil-Félix reste négative dans la plupart des cas ; elle est au contraire positive chez ceux qui ont fait de la température même si cette fièvre est due à une autre cause que le typhus. Dans tous les foyers épidémiques, les épidémies prirent fin trois semaines après la vaccination et ne reparurent pas l'année suivante.

Vaccin de LAIGRET et R. DURAND.

Ces auteurs (92) ont amélioré la méthode originale en utilisant le virus murin après passage dans le cerveau des souris, ce qui permet de le titrer de façon plus précise et le rend moins sensible aux influences physico-chimiques. Il s'agit d'une souche paralysigène que l'on peut titrer comme le virus amaryl par l'apparition de paralysie chez la souris. Au moment de l'emploi, le vaccin desséché est dilué dans l'eau, les indigènes reçoivent une seule dose de dix unités souris, les européens reçoivent trois doses croissantes, la première tuée par la chaleur, la seconde une semaine plus tard, correspondant à une unité souris et la troisième, après trois semaines, de dix unités souris. Les résultats sont excellents.

Vaccinations par scarifications cutanées. (Méthode de LAIGRET (90)).

J. LAIGRET favorablement impressionné par les essais de vaccination contre la fièvre jaune pratiquée par scarifications cutanées (PELTIER, DURIEUX, JONCHERE et ANQUIE) pensa utiliser la même voie.

LAIGRET et PRIET (1939) utilisent le vaccin de LAIGRET

et R. DURAND; un comprimé de vaccin (20 doses) est écrasé dans XX gouttes d'eau distillée stérile, de façon à charger 20 vaccino-styles. Une goutte correspond à 100 unités souris, soit 10 fois la dose employée par voie sous-cutanée.

Les auteurs n'observent pas de réaction générale notable; localement, il apparaît une petite élevation rouge qui persiste trois jours. LAIGRET, FABIANI et VARGUES (94) observent des résultats excellents. Le test de GIROUD fait par P. DURAND sous le contrôle d'Ed. SERGENT est positif dans un tiers des cas comme après vaccination par la voie habituelle.

Méthode de BALTEANU et CONSTANTINESCO.

Ces auteurs emploient le cerveau de cobaye infecté de typhus historique et tentent d'atténuer leur virus par enrobage dans l'huile (4). Leurs expériences ont complètement échoué.

2°) Groupe du Tsutsugamushi.

Vaccin de KAWAMURA (83 et 84).

KAWAMURA et ses collaborateurs vaccinent 20 hommes et 11 femmes contre le tsutsugamushi avec la souche Pescadore passée par testicule de lapin pendant 181 générations. Une émulsion de testicule dans de l'eau physiologique diluée au 1/10^e et conservée à la glacière pendant 20 heures est injectée à la dose de 0,5 à 1 cc. par voie sous-cutanée, selon l'âge et l'état général des sujets. Tous les individus ont une réaction locale, une fièvre à 39° au maximum, des frissons, de la céphalée, une éruption, souvent de la splénomégalie, de l'hépatomégalie, de la leucopénie, de l'albuminurie. Parmi les vaccinés, un homme qui, onze ans auparavant, avait fait une maladie de gravité moyenne, n'a présenté aucun des symptômes généraux signalés et a eu seulement une légère éruption. Dans

72,6 p. 100 des cas, on isole des rickettsies en injectant dans le péritoine de la souris le sang des patients. Ces individus travaillent ensuite dans des régions où le tsutsugamushi est endémique et aucun ne contracte la maladie. Du reste, l'inoculation intra-péritonéale de la souche Pescadore à la souris blanche protège complètement contre la souche Niigata qui est toujours mortelle pour cet animal. La conservation de la virulence est meilleure en liquide de Tyrode qu'en liquide de Ringer. L'émulsion mise en ampoules et conservée entre 3 et 5° est virulente pendant 5 à 13 jours. Les auteurs pensent que la souche Pescadore peut être utilement employée dans la prophylaxie du tsutsugamushi.

3. — VACCINS TUÉS.

De nombreux chercheurs ont essayé de préparer des vaccins tués en utilisant du sang ou des émulsions d'organes prélevés sur des malades ou des animaux infectés. D'autres ont voulu utiliser des suspensions de *B. Proteus*; toutes ces tentatives n'ont fait que confirmer la difficulté de produire une immunité durable avec des vaccins tués.

DA ROCHA LIMA en 1918 (38), BREINL en 1924 (19) obtiennent chez l'animal une certaine immunité par l'injection de suspensions phéniquées préparées à partir du pou. DYER, WORKMAN, RUMREICH et BADGER, en 1932, font des expériences avec des vaccins phéniqués préparés avec des puces infectées de typhus murin.

1°) *Typhus exanthématique et murin.*

Vaccin de WEIGL (163).

Des poux élevés au laboratoire sont infectés par voie anale, sous le microscope, à l'aide d'une fine pipette remplie d'émulsions d'intestins de poux infectés; ces poux

sont nourris deux fois par jour sur des sujets humains; au bout de dix jours, chaque pou porte 10 à 100 rickettsies; le pou est disséqué, l'intestin isolé, broyé et émulsionné en eau physiologique phéniquée à 5 pour 1.000. Pour obtenir un vaccin de concentration constante, on mélange les émulsions des intestins de poux récoltés pendant plusieurs mois. Primitivement trois suspensions types furent préparées, contenant 25, 50 et 100 intestins de poux, 1 cc. de chaque devant être inoculé par voie sous-cutanée à intervalle de trois à six jours. Pratiquement, la dose totale est abaissée pour le vaccin standard à 90 intestins répartis sur trois injections.

LIU, ZIA et WANG en 1938 (104) ont étudié les réactions sérologiques des individus après la vaccination et ils ont trouvé que les sérums des sujets récemment vaccinés agglutinent *Proteus* et rickettsies; les agglutinines des rickettsies ont tendance à disparaître plus rapidement que les agglutinines anti-*Proteus*.

WEIGL déclare que la protection conférée aux travailleurs de laboratoire est remarquable, ceux qui ont été vaccinés restant indemnes malgré les morsures de centaines de poux infectés. NICOLLE et SPARROW (128) ne réussissent pas à infecter avec des émulsions virulentes de cerveau de cobayes deux enfants vaccinés. En Pologne, CHOZKO (30) ne relève qu'un cas de typhus, douteux d'ailleurs, sur 2.794 personnes vaccinées au cours de l'épidémie de 1931-32. RADŁO (143) rapporte que dans le district de Jaworow, 13.980 personnes furent vaccinées en quatre ans avec des doses totales variant de 90 à 1 intestin de poux; la morbidité typhique passa de 200 à 12 cas l'année suivante. De nombreuses observations confirment ces rapports. Toutefois nous connaissons plusieurs cas de typhus sérieux parmi le personnel vacciné par la méthode de WEIGL dans différents laboratoires de typhus.

Mais la production de ce vaccin nécessite un travail considérable; aussi CHRZANOWSKI et MOSING (31) em-

ploient-ils des suspensions phéniquées d'excréments de poux infectés comme vaccins; mais si ce procédé évite la dissection des poux, il ne résoud pas le problème de l'élevage des poux et de leur infection.

Vaccin de ZINSSER et R. CASTANEDA.

De nombreux chercheurs ont essayé d'obtenir un vaccin plus facile à préparer que celui de WEIGL. En 1933, TZERKHNOWITZER et PALANT (160) essayent des suspensions formolées de cerveau de cobaye infecté expérimentalement et montrent que les émulsions formolées donnent de meilleurs résultats que les vaccins phéniqués.

En 1931-32, ZINSSER et CASTANEDA (170) constatent qu'en abaissant la résistance de rats infectés de typhus murin par des régimes scorbutigènes, des injections de benzol ou une irradiation par des rayons X, les rickettsies s'accumulent dans leur péritoine; ils en déduisent le vaccin suivant :

Les rats sont exposés aux rayons X pendant une heure, puis immédiatement après inoculés avec une suspension de vaginales de cobaye infectée avec un virus de typhus murin mexicain. On recueille dans de l'eau physiologique formolée à 2 pour 1.000 l'exsudat péritonéal des rats morts vers le quatrième ou le cinquième jour; on centrifuge et on prépare une suspension contenant environ 1.000 millions de germes au cc. On injecte à intervalle d'une semaine 3 ou 4 doses croissantes de 0,5 à 4 cc.

ZINSSER et CASTANEDA (171) constatent que, sur 11 vaccinés par CASCO à Mexico, 3 seulement font un typhus (au lieu de 2 sur 3 normaux); la réaction de Weil-Félix est positive chez les vaccinés. VEINTEMILLAS en 1939 apporte également en Bolivie des résultats encourageants; sur 12 vaccinés qui reçoivent chacun 2.000 doses infectieuses pour l'homme, 3 seulement font un typhus. ZINSSER cependant ne considère pas que la méthode utilisant

le virus murin résolve complètement le problème européen, étant donné son faible pouvoir protecteur à l'égard de l'infection historique. *

Vaccins préparés par culture de tissus.

NIGG et LANDSTEINER en 1930 (130) parviennent à cultiver les rickettsies sur vaginale hachée de cobaye dans un milieu au Tyrode. En 1934, KLIGER et ASCHNER (85) préparent par cette méthode des vaccins formolés à 1 pour 1.000 contre le typhus historique et le typhus murin méditerranéen.

P. GIROUD et PLOTZ (77) en 1936, constatent que les cultures confèrent une excellente immunité contre l'inoculation du virus de passage et que la voie intra-dermique est une de celles qui suscitent la meilleure immunité. Partant de ces résultats en 1936, P. GIROUD (57) prépare à l'aide du virus murin de Tunis un vaccin desséché aux dépens de cultures de tissus, qui donne de bons résultats.

ZINSSER, WEI et FITZPATRICK (174) cultivent les rickettsies du typhus historique sur du tissu de vaginales de cobayes, d'embryons de souris ou de poulets déposés sur gélose au sérum.

En 1939, FITZPATRICK cultive les virus historiques et pourpré sur gélose additionnée d'embryon de souris, et prépare un vaccin formolé.

Vaccins préparés par cultures sur œufs.

BARYKINE (1938) (5) puis Cox (1939-40) (36) cultivent les virus des fièvres exanthématiques dans l'enveloppe du jaune de l'embryon de poulet. Le développement des rickettsies dans le jaune de l'œuf est tel que le pouvoir infectant en est 100 à 1.000 fois supérieur à celui qu'on obtient par les autres méthodes de culture (d'après Cox).

Cox (37) prépare son vaccin de la façon suivante:

L'œuf incubé 6 jours à 39° est inoculé en plein jaune et conservé à 37° ; aux troisième ou quatrième passages, les œufs meurent en quatre à cinq jours. Les membranes sont prélevées, broyées et centrifugées; un œuf donne de 6 à 25 cc. de vaccin selon sa richesse en rickettsies; on pratique trois injections de 1 cc. à une semaine d'intervalle.

Récemment OTTO et BICKHARDT (133) puis GILDEMEISTER et HAAGEN (1942) (53) ont adapté sur l'œuf R. MOOSE-RI et PROWAZEKI; ces derniers ont obtenu 54 passages continus. L'œuf incubé 8 jours à 39°, puis maintenu après inoculation cinq jours à 37° est ouvert aseptiquement et les membranes sont recueillies; elles sont émulsionnées en solution de Ringer et phéniquées à 5 pour 1.000. P. de la QUINTANA (142) qui a expérimenté le vaccin de OTTO en Espagne, apporte des résultats encourageants.

Vaccins de cultures combinées.

ZINSSER, PLOTZ et ENDERS (173) utilisent l'enveloppe de jaune d'œuf au quatrième jour de l'infection pour inoculer sur une grande surface une gélose recouverte d'embryon de poulet haché. Le développement des rickettsies est abondant après six ou sept jours à 37°.

Vaccins utilisant l'infection du poumon.

En 1937, WOHLRAB (166) infecte par voie respiratoire des souris anesthésiées à l'éther, mais ne constate aucun résultat. CASTANEDA (1939) (29) trouve que l'instillation intranasale de virus murin chez des rats ou des souris anesthésiées à l'éther produit une pneumonie caractérisée par un développement considérable des rickettsies ; il produit des lésions similaires mais plus légères, chez le lapin. CASTANEDA a mis au point un vaccin aux dépens du poumon de souris.

En 1940, P. DURAND et SPARROW (47) confirment ces découvertes et pensent que l'animal de choix est la souris,

qui meurt en trois à six jours avec une chute de température considérable. Les poumons sont à peu près complètement hépatisés; un 10.000^e de poumon suffit pour tuer un rat. Par broyage suivi de mise en émulsion et de centrifugation, on peut obtenir, avec les poumons d'une souris, 15 à 20 cc. d'une suspension de rickettsies.

Les virus historique et boutonneux se comportent de même. En 1940, DURAND et GIROUD (44) préparent suivant cette méthode un vaccin formolé contre le typhus exanthématique. Les essais sur l'homme ont donné de bons résultats; les sujets sont vaccinés par trois injections sous-cutanées à intervalles d'une semaine; la réaction de Weil-Félix avec la souche OX 19 peut devenir positive, à partir du huitième jour après la seconde injection; la réaction d'agglutination à R. Prowazeki montre une progression similaire. Le sérum de ces sujets éprouvé par le test de séro-protection cutanée de GIROUD, s'est montré équivalent au sérum de convalescent; il neutralise le virus. ROYER (148) dans sa thèse, rapporte les bons résultats obtenus par cette technique.

En vue d'augmenter la valeur antigénique du vaccin, P. DURAND à Tunis a essayé de remplacer le formol par le xanthate de soude.

Vaccin de DURAND et GIROUD préparé à l'aide du poumon de lapin (50).

Cette méthode de préparation d'un vaccin contre le typhus est basée sur le même principe que la précédente, et s'appuie sur les mêmes bases expérimentales.

P. DURAND et P. GIROUD (1941) (45) ont d'abord inoculé le lapin à l'aide d'une souche constamment entretenue du poumon de souris. Mais cette méthode était compliquée et donnait des résultats inconstants. Aussi GIROUD et son collaborateur R. PANTHIER (75 et 76) (1941-42) se sont-ils efforcés d'adapter les rickettsies du typhus historique au poumon de lapin; en abaissant la résis-

tance du lapin par divers artifices (exposition au froid, injection de T. A. B. chauffé) ils ont pu mettre au point le passage lapin-lapin.

Actuellement, P. GIROUD, à l'Institut Pasteur, de Paris, entretient deux souches sur lapins; l'une dénommée H. S. P. en est au 75^e passage, l'autre W XIII d'origine polonaise, au 40^e; plus de 3.000 lapins ont été utilisés.

Le vaccin lapin se prépare d'après la même méthode que le vaccin souris; le lapin, inoculé par voie trachéale, sous anesthésie générale à l'éther, puis maintenu, tondu, à une température ambiante de + 2° à + 4° fait une pneumonie à rickettsies qui évolue en quatre à cinq jours; il est alors sacrifié; ses poumons sont prélevés et, après des contrôles bactériologiques minutieux, conservés à — 25°. La suspension vaccinante est obtenue en broyant ses poumons, puis en les reprenant par de l'eau physiologique formolée à 2 pour 1.000; les gros débris de poumons sont éliminés par des centrifugations lentes. La vaccination se fait en trois injections de 1 cc. espacées d'une semaine.

Ce vaccin est donc composé d'une suspension de rickettsies bacilliformes formolée à laquelle s'ajoutent des extraits pulmonaires également formolés. La présence de ces extraits est très intéressante, comme l'a montré P. GIROUD dans une note récente (73). Ils provoquent des agglutinines anti-proteus de taux oscillant entre 50 et 200; l'étude des anticorps par le test de séro-protection cutanée montre que l'extrait est bon antigène, peut-être supérieur aux suspensions de rickettsies; l'extrait chauffé donne des résultats inférieurs. La diminution du pouvoir antigénique semble proportionnelle au chauffage. Le meilleur antigène est obtenu par l'association de l'extrait aux rickettsies.

Les réactions consécutives à cette vaccination sont bénignes et excessivement rares. Elles se bornent généralement à une petite rougeur au point d'injection, exception-

nellement suivie d'une légère réaction thermique dans les vingt-quatre heures qui suivent.

Comment se comportent les sujets vaccinés en foyer infecté ?

a) Au laboratoire, le Docteur René MARTIN, VITTOZ, N. BOURCART et nous-même (107) avons pu recueillir quelques observations, et les opposer à des observations de sujets vaccinés par d'autres méthodes. Malgré les contaminations massives et répétées qu'entraînent la préparation du vaccin par la méthode de Durand et Giroud, les sujets vaccinés par cette méthode ont fait des typhus beaucoup moins graves que ceux observés chez des sujets vaccinés par la méthode de WEIGL et non vaccinés. Nous avons pu distinguer selon la forme de la maladie des typhus bénins, rappelant la symptomatologie classique mais très atténuée, sans typhos, évoluant en 6 à 7 jours, des formes grippales et des formes ambulatoires.

b) En milieu épidémique le recul du temps manque encore pour juger cette vaccination. Toutefois les renseignements apportés par FRIBOURG-BLANC dans sa thèse permettent les plus grands espoirs ; en Allemagne, les prisonniers vaccinés semblent tout à fait à l'abri de la contagion ; au chemin de fer méditerranéen-Niger, les médecins sont très élogieux.

Vaccin de COMBIESCO (35).

Récemment COMBIESCO et ses collaborateurs ont montré que R. prowazéki peut se développer dans les poumons de jeunes chiens d'environ quatre semaines, inoculés par voie trachéale. Chaque chien reçoit les poumons de deux souris infectées et sacrifiées à la soixante-douzième heure, broyés dans 10 cc. d'eau physiologique. Le chien, maintenu à 0°, meurt vers le troisième jour. A poids égal, le poumon de chien contient deux fois moins de rickettsies que le poumon de souris. Le vaccin obtenu donne une assez bonne immunité.

2°) *Fièvre pourprée.*

Vaccin de SPENCER et PARKER.

La première démonstration pratique réussie de protection contre une infection à rickettsies au moyen d'un vaccin tué est due à SPENCER et PARKER (1935) qui utilisèrent une émulsion phéniquée formolée de tiques infectées et broyées (*Dermacentor Andersoni*) contre la fièvre tachetée des Montagnes Rocheuses. La protection obtenue est variable et il est désirable de revacciner les sujets chaque année. PARKER (1935) (139) rapporte que sur 250.000 vaccinés dans la zone endémique, 64 seulement eurent une fièvre tachetée. La protection est également excellente chez les travailleurs de laboratoire qui manipulent le virus, cependant très virulent, de Montana, BITTER ROOT VALLEY.

En 1933 (108), MONTEIRO prépare un vaccin similaire avec la tique Sud Américaine *Amblyomma Cajennense*.

En 1934 (26) CANET prépare un vaccin contre la fièvre tachetée avec la tique européenne *Dermacentor reticulatus*.

P. DURAND, P. GIROUD et H. SPARROW (64) ont montré en 1940 qu'il est possible d'obtenir le développement des rickettsies de la fièvre pourprée dans le poumon de souris. P. DURAND et P. GIROUD (44) ont pu ainsi préparer un vaccin formolé efficace à partir du poumon de souris infectées avec la souche de R. R. PARKER.

Ces auteurs ont également inoculé avec succès des lapins par la voie trachéale.

P. DURAND et SPARROW (47) ont de même réussi à inoculer le virus boutonueux par voie respiratoire à la souris et au mérion.

3°) *Fièvre des tranchées.*

MOSING (1936) (111) prépare un vaccin tué avec R. WEIGLI en utilisant la technique de WEIGL. Il aurait eu de bons résultats sur le personnel de son laboratoire.

Il apparaît clairement que, dans une maladie comme le typhus, le virus vivant, virulent, est trop dangereux et d'un emploi difficile dans la vaccination courante.

Les vaccins vivants atténués semblaient apporter la solution mais ne sont pas sans inconvénients. Les vaccins ne peuvent être conservés pendant longtemps, et le procédé d'atténuation demande un contrôle rigoureux afin que la virulence puisse être réduite sans que le pouvoir immunisant soit détruit. ZINSSER (169) (1937) pense même que virulence et pouvoir immunisant sont inséparables, et que, par conséquent, ou bien le vaccin est virulent et dangereux, ou bien il est tué et inefficace. Les auteurs français et en particulier G. BLANC ont la conviction que leurs souches murines atténuées sont efficaces sans présenter de danger sérieux. Mais en fait, ces vaccins ont été employés sur l'indigène, qui est plus ou moins immunisé par une affection inapparente au cours de son enfance (146). Chez l'européen, les vaccins vivants doivent être manipulés avec prudence, et c'est ainsi que LAIGRET et R. DURAND utilisent trois doses croissantes, en commençant avec des virus tués. On connaît les réactions sérieuses survenues au Chili avec le vaccin de BLANC. L'emploi de vaccins vivants atténués sur des sujets n'ayant jamais eu de contact avec le typhus demande donc beaucoup de circonspection. Il faut montrer encore beaucoup plus de prudence si la population vaccinée est porteuse de poux, car le virus vivant une fois introduit dans l'organisme peut y rester très longtemps, les poux peuvent le reprendre, lui rendre sa virulence et le transporter, comme l'ont montré expérimentalement sur le sin-

ge, avec le virus murin, LEPINE et BILFINGER (1934) (99), NICOLLE et LAIGRET (1935) (126) par ailleurs ont infecté des poux sur un malade qui souffrait d'une réaction fébrile à la suite de la vaccination avec un virus vivant. Il est donc prudent d'épouiller les malades avant la vaccination.

Tous ces faits ont conduit le comité des experts de la Société des Nations, en 1937, aux conclusions suivantes : les virus vaccins vivants, quand ils produisent l'infection, confèrent une protection plus importante et plus large que ne le feraient les mêmes virus tués, mais, bien que les risques encourus en utilisant des vaccins vivants puissent être négligés en temps d'épidémie, les vaccins tués sont souhaitables, en dépit de leur coût plus élevé ou de leur efficacité moindre dans un pays indemne de typhus.

Toutefois, jusqu'en 1941-42, le virus tué avait un pouvoir immunogène si limité et si réduit que des quantités importantes étaient nécessaires ; or, toutes les techniques employées jusqu'à cette époque s'étaient révélées insuffisantes. Les récoltes obtenues par la technique de WEIGL même ne pouvaient justifier l'énorme travail nécessaire. En outre, LEPINE (loco cit.) montrait que la durée de l'immunité conférée par le vaccin était plus courte qu'elle n'avait été supposée. Tout au plus était-elle établie pour un an. D'autre part, l'immunité obtenue à l'aide de vaccins tués se montrait rigoureusement spécifique, et par exemple, tandis que le vaccin murin de ZINSSER et CASTANEDA ne protège pas contre le typhus historique, le vaccin de WEIGL ne met pas les travailleurs de l'Institut Pasteur de Tunis à l'abri du typhus murin. On avait même émis l'opinion que les vaccins ne protégeaient pas, et que des vaccins vivants étaient indispensables pour immuniser.

La vaccination contre le typhus exanthématique a été entièrement renouvelée quand P. DURAND et P. GIROUD

ont mis au point leur méthode d'infection de la souris par voie nasale, puis surtout quand P. GIROUD et R. PANTHIER ont montré la possibilité du passage lapin-lapin.

De nombreuses études comparatives, en particulier celle de OTTO et R. BICKHARDT (133) ont montré que ce vaccin a un excellent pouvoir immunisant, nullement inférieur à celui des vaccins sur œufs ou sur souris, auxquels il sert de référence, et qu'il est d'une régularité parfaite.

SÉRO-VACCINATION.

De nombreux auteurs ont pensé à réaliser une séro-vaccination soit dans le but d'atténuer les réactions d'une vaccination par virus vivant grâce à l'adjonction de sérum immun, soit pour réaliser une immunisation à la fois immédiate et de longue durée.

La question est toujours à l'étude, aucun résultat probant n'ayant encore été apporté.

CONCLUSIONS

1° Parmi les différentes méthodes permettant d'apprécier le pouvoir antigénique d'un sérum et le degré d'immunité d'un sujet vis-à-vis des fièvres exantématiques, quatre ont un intérêt tout particulier :

a) l'Hémodiagnostic de L. BRUMPT et le Tr. B. A. de STEÜER et KÜDICKE dérivés de la réaction de WEIL et FELIX, peu précis, mais d'application rapide et simple, sont utilisables au lit du malade ou au cours de recherches sur un grand nombre de sujets.

b) la réaction de WEIGL faite suivant sa méthode ne peut être employée que dans les laboratoires spécialisés. La lecture sur fond noir nécessite des suspensions absolument purifiées, ce qui est très difficile à obtenir de l'avis même de ceux qui la pratiquent.

La technique d'agglutination des rickettsies préconisée par P. GIROUD et Mme GIROUD en fait une réaction précise et sensible, facile à employer.

c) Le test de séro-protection cutanée permet la neutralisation du virus; grâce à ses applications nombreuses et variées, il est d'un très grand intérêt au cours des recherches de laboratoires.

2° La prémunition se manifeste en général 48 heures après l'inoculation; avant ce terme il y a toujours présence; cet état de prémunition qui d'après G. BLANC paraît plus tissulaire qu'humoral, dure tant que le virus persiste dans l'organisme; ce virus permet à l'organisme d'élaborer et de renouveler ses anticorps; quand il dis-

paraît il fait place à une phase d'immunité vraie, au cours de laquelle les anticorps peuvent rapidement diminuer.

3° La notion de terrain est inséparable de la notion d'immunité; elle explique les modifications du sujet vis-à-vis du virus; du terrain dépend la plus grande réceptivité à l'infection; il pourrait également produire des modifications et voire même, dans certaines conditions expérimentales, de véritables mutations du virus.

4° L'immunité héréditaire est négligeable; l'immunité de race n'est pas prouvée dans le sens absolu du mot. Il est possible qu'elle existe dans la mesure où, plusieurs générations ayant eu un contact long et ininterrompu avec le virus, la race s'est adaptée à lui.

5° Les affections inapparentes ou bénignes représentent, pour les pays où le typhus sévit à l'état endémique, un mode d'immunisation très important, en particulier chez les femmes et les enfants.

6° L'animal fait ou ne fait pas de réaction locale selon qu'il est peu sensible ou très sensible à la maladie générale; normalement à la phase de réaction locale succède une phase de généralisation de l'immunité.

7° Dans les conditions habituelles, le virus a une très grande stabilité; on ne peut pas passer d'une affection exanthématique à une autre; chaque affection est caractérisée par sa maladie expérimentale sur l'animal et ses agglutinines propres.

8° Au cours des fièvres exanthématiques, la sérothérapie ne dispose que de moyens précaires; le sérum de convalescents n'a qu'une valeur préventive; divers sérums d'animaux sont à l'étude, aucun résultat n'est acquis jusqu'ici.

9° La vaccination antityphique dispose de vaccins vivants atténués qui confèrent une immunisation importante, mais dont l'emploi doit se limiter aux territoires où le typhus est endémique. Les vaccins tués n'ont pu

avoir d'application pratique qu'avec le vaccin sur poumons de lapins, qui peut être produit en grande quantité.

Il confère une protection suffisante pour permettre, en milieu infecté, aux sujets l'ayant reçu de confirmer leur immunité par une affection inapparente ou liminaire.

Vu:

Le Doyen :
BAUDOUIN

Vu:

Le Président de la Thèse :
LEMIERRE

Vu et Permis d'Imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris,
G. GIDEL

BIBLIOGRAPHIE

1. AFANASSIEWA et TRETJAK. — Zbl. f. Bakt. Orig. 1933, CXXX, p. 123.
2. ARKWRIGHT, BACOT et DUNCAN. — Brit. Med. Journ., 21 sept. 1918, p. 307.
3. BALTAZARD. — Bull. Soc. Path. Exot., 1936, XXIX, p. 403.
4. BALTEANU et CONSTANTINESCO. — C. R. Soc. Biol., 1937, CXXIV, p. 690. — Bull. Ac. Med. Roumanie, 1937, III, p. 299.
5. BARYKINE, KOMPANEEZ, BOTCHAROWA et BAUER. — Bull. Off. Inter. Hyg. Publ., 1938, XXX, p. 326.
6. BARYKINE, MINERVINE et KOMPANEEZ. — Arch. I. P. Tunis, 1930, XIX, p. 422.
7. BENHAMOU. — Bull. Soc. Path. Exot., 1932, XXV, p. 685.
8. BESREDKA. — Les Immunités locales, Masson, 1937.
9. BLANC (G.). — VII^e Congrès Fédération. Sc. Med. Afrique du Nord, p. 28.
10. BLANC et BALTHAZARD. — C. R. Ac. des Sc., 1938, CCVII, p. 547. — Revue Hyg. Med. Prev. Paris 1939, LXI, p. 593. — Bull. Soc. Path. Exot. 1940, XXXIII, p. 25.
11. BLANC et GAUD. — Bull. Ac. Med. 1935, CXIII, p. 407.
12. BLANC et MARTIN. — C. R. Ac. Soc. 1935, CC, p. 865.
13. BLANC et NOURY. — C. R. Soc. Biol. 1939, CXXX, p. 234.
- 13 bis. BLANC et NOURY. — Arch. I. P. Maroc, 1937, I, n^o 4, p. 687 à 719.
14. BLANC, NOURY et BALTAZARD. — C. R. Ac. Sc. 1935, CCI, p. 1226.

15. BLANC, NOURY, BALTAZARD et BARNEOUD. — Bull. Ac. Méd. 1933, CX, p. 274.
16. BLANC, NOURY, BALTAZARD, BRUNEAU et BARNEOUD. — Bull. Ac. Méd. 1934, CXI, p. 582.
17. BONJEAN et NAIN. — C. R. Soc. Biol. 1937, CXXV, p. 998.
18. BOGDANOFF. — Zblt. f. Bakt. Orig. 1933, CLXXIII, p. 128.
19. BREINL. — Z. Immun.forsch. 1924, XLI, p. 97.
20. BRUMPT (E.). — Soc. Méd. Hôp. Paris, 1940, p. 16-17-18.
21. BRUMPT. — C. R. Soc. Biol. 1932, CX, p. 1202.
23. BURNET, DURAND et OLMER. — C. R. Ac. Sc. 1928, CLXXXVII, p. 1170.
24. BUSTAMENTE, VARELA et BOSQUE-PICHARDO. — Revista Med. Mexico 1934, XIV, p. 223.
25. BUSTAMENTE, VARELA et NERI. — Bull. I. P. 1936, XXXIV, p. 488.
26. CANET. — Thèse Paris, 1934.
27. CASTANEDA (R.). — Journ. Exp. Med., 1935, LXII, p. 289.
28. CASTANEDA (R.). — J. Immun. 1936, XXXI, p. 227 et 285.
29. CASTANEDA (R.). — Amer. J. Path. 1939, XV, p. 467.
30. CHODZKO. — Bull. Off. Intern. Hyg. Publ. 1933, XXV, p. 1549.
31. CHRZANOWSKI et MOSING. — Arch. I. P. Tunis, 1933, XXII, p. 346.
32. CIUCA, BALTEANU et CONSTANTINESCO. — C. R. Soc. Biol. 1934, CXVII, p. 514.
33. CIUCA, BALTEANU et CONSTANTINESCO. — Bull. Off. Inter. Hyg. Publ. 1935, XXVII, p. 1554.
34. COMBIESCO, POPESCO, STAMATESCO et ANGELESCO. — C. R. Soc. Biol., 1933, CXIV, p. 316.
35. COMBIESCO, ZOTTA, MANCIULESCO, POPP et TASCAU. — Zeitschr. f. Hyg. 1942, CXXIII, p. 612.
36. COX. — Publ. Health. Rep. Wash. 1938, LIII, p. 2241.
37. COX. — Publ. Health. Rep. Wash. 1939, LIV, p. 1070 et 1940 p. 110.

38. DA ROCHA LIMA. — Münch. Med. Wochenschr. 1918, LXV, p. 1554.
39. DIACONO. — Arch. I. P. Tunis, 1941, XXX, p. 143.
40. DOERR, SCHNABEL et VOCHTLING. — Z. f. Immun. 1921, XXXI, p. 249.
41. DURAND (P.). — C. R. Ac. Sc. 1932, CXCIV, p. 1764.
42. DURAND (P.) et BALOZET. — Arch. I. P. Tunis, 1940, XXIX, p. 363 et 1941, XXX, p. 1.
43. DURAND (P.) et GIROUD (P.). — C. R. Ac. Sc., 1940, CCX, p. 493.
44. DURAND (P.) et GIROUD (P.). — C. R. Ac. Sc. 1940, CCXI, p. 167.
45. DURAND (P.) et GIROUD (P.). — Arch. I. P. Tunis 1940, XXIX, p. I, Annales I. P. 1941, LXVI, p. 425.
46. DURAND, GIROUD et SPARROW. — C. R. Ac. Sc., 1940, CCX, p. 751.
47. DURAND et SPARROW. — C. R. Ac. Sc. 1940, CCX, p. 420.
48. FITZPATRICK. — Pr. Soc. Exp. Biol. Med., N. Y. 1939, XLII, p. 217.
49. FLETCHER, LESSLAR et LEWTHWAITE. — Trans. roy. Soc. trop. Med., 1929, XXIII, p. 57.
50. FRIBOURG-BLANC (J.). — La vaccination contre le typhus exanthématique par la méthode de P. Durand et P. Giroud, Thèse Paris, 1942.
51. FRIEDBERGER. — Deut. Méd. Woch., 1917, XLIII, pp. 1314-1353-1390.
52. GAUD. — Bull. Off. Intern. Hyg. Publ. 1938, XXX, p. 298.
53. GILDEMEISTER et HAAGEN. — Zblt. f. Bakt. Par. Inf., 1942, CXLVIII, p. 259.
54. GIROUD (P.). — Arch. I. P., 1935, XXIV, p. 475.
55. GIROUD (P.). — C.R. Soc. Biol. 21 déc. 1935, CXX, p. 1193.
56. GIROUD (P.). — C. R. Soc. Biol., 1936, CXXI, p. 714.
57. GIROUD (P.). — C. R. Soc. Biol. 1936, CXXII, p. 1071.
58. GIROUD (P.). — C. R. Soc. Biol. 1936, CXXIII, p. 368.
59. GIROUD (P.). — C. R. Soc. Biol. 1936, CXXIII, p. 862.
60. GIROUD (P.). — Arch. I. P. Tunis 1936, XXV, p. 74.

61. GIROUD (P.). — Arch. I. P. Tunis 1936, XXV, p. 313.
62. GIROUD (P.). — Arch. I. P. Tunis, 1936, XXV, p. 419 à 423.
63. GIROUD (P.). — Bull. Soc. Path. Exot. 1935, XXVIII, p. 899.
— Arch. I. P. Tunis 1936, XXV, p. 74.
64. GIROUD (P.). — Bull. Off. Int. Hyg. Publ. 1937, XXIX, p. 715.
65. GIROUD (P.). — Bull. Soc. Path. Exot., 6 avril 1938, XXXI, n° 4,
p. 245.
66. GIROUD (P.). — Acta Conventus Tertii de Tropicis atque mala-
riae Morbis Pars. I, 1938, p. 565.
67. GIROUD (P.). — C. R. Soc. Biol. 1939, CXXX, p. 230.
68. GIROUD (P.). — C. R. Soc. Biol. 1939, CXXXI, p. 1154.
69. GIROUD (P.). — Bull. Soc. Path. Exot. 1939, XXXII, p. 251.
70. GIROUD (P.). — C. R. Soc. Biol. 1940, CXXXIII, p. 346.
72. GIROUD (P.). — Bull. Soc. Path. Exot. 1942, XI et XII p. 345
à 363.
73. GIROUD (P.). — C. R. Soc. Biol. Paris, avril 1942, CXXXVI,
n° 7 et 8, p. 342.
74. GIROUD (P.). — Journ. Med. et Chir. Pratiques, sept. 1942.
75. GIROUD et PANTHIER. — C. R. Ac. Sc. 1940, CUXI, p. 167.
76. GIROUD et PANTHIER. — Annales I. P., févr. 1942, LXVIII, p.
137.
77. GIROUD et PLOTZ. — C. R. Soc. Biol. 1936, CXXI, p. 312. — C.
R. Ac. Sc. 1935 cc. p. 1255. — Arch. I. P. Tunis, 1935,
XXIV, p. 470.
78. GIROUD et PLOTZ. — C. R. Soc. Biol. 1936, CXXI, p. 312.
80. GIROUD et TANNENBAUM. — C. R. Soc. Biol. 1937, CXXII, p. 698.
81. HESCHELES et FLECK. — Z. f. Immun. 1933, LXXIX, p. 514.
82. JACOBITZ (E.). — Klinische Woch. 1930, p. 654.
83. KAWAMURA, ITO, NAKAMURA, KAMIMURA et SATO. — Kitasato
Arch. 1937, XIV, p. 75.
84. KAWAMURA, KASAHARA, TOYAMA, NISHINARITA et TSUBAKI. —
Kitasato Arch. 199, XVI, p. 92.
85. KLIGER et ASCHNER. — Brit. J. exp. Path. 1934, XV, p. 537.
86. KRAUS. — Z. f. Hyg. u. Infek. 1932, CXIII, p. 9.

87. KRAUS et CASTILLO. — J. Rev. Inst. Bact. Chile. 1930, I, p. 59.
88. KURODA. — Zblt. f. Bakt. Orig. 1936, CXXXVI, p. 163.
89. KUTEISCHIKOW, DOSSER et BERNHOFF. — In BERNHOFF, KUTEISCHIKOFF et DOSSER J. — Mikrob. u. Immunbiol. in Zblt. f. Bakt. Ref. 1934, CXV, p. 430.
90. LAIGRET. — Bull. Soc. Path. exot. 1940, XXXIII, p. 227.
91. LAIGRET. — Bull. Soc. Path. exot. 14 Oct. 1942, XXXV, n° 9-10, p. 317.
92. LAIGRET et DURAND (R.). — Bull. Ac. Méd. Paris, 1939, CXXII, p. 84.
— Bull. Soc. Path. exot. 1932, XXXII, p. 735.
93. LAIGRET, DURAND (R.), BELFORT et LEFAUCHEUR. — Arch. I. P. Tunis 1937, XXVI, p. 453.
94. LAIGRET, FABIANI et VARGUES. — Bull. Ac. Méd. 1942, CXXXVI, p. 390.
95. LEGRAIN. — Soc. Biol. Séance 19 Janv. 1895, p. 32.
96. LEMOS-MONTEIRO. — C. R. Soc. Biol. 1931, CVII, p. 1161.
97. LÉPINE (P.). — 1^{er} Congrès. Int. Hyg. Méd.
98. LÉPINE (P.). — Livre publié en hommage et dédié à la mémoire du Professeur CANTACUZÈNE, Masson 1934, p. 351. Annales I. P. 1933, LI, p. 290.
- 98 bis. LÉPINE (P.). — Arch. f. d. gesamke Virusforschung 1942, b. II, Heft 4, p. 406.
99. LÉPINE et BILFINGER. — C. R. Ac. Sc. 1934, CXCVIII, p. 1553.
100. LÉPINE et CAMINOPETROS. — C. R. Ac. Sc. 1932, CXCV, p. 569.
101. LÉPINE et SAUTTER. — Bull. Soc. Path. exot. 1936, p. 13.
102. LESTOQUARD (F.) et DONATIEN (A.). — Bull. Soc. Path. exot. 1935, XXVIII, p. 356.
103. LEVADITI et LÉPINE. — Les Ultravirus des Maladies humaines. Maloine 1938, p. 676.
104. LIU, ZIA, WANG. — Proc. Soc. Exp. Bio. Med. N. Y. 1938, XXXVIII, p. 682.
105. MACHIAVELLO et DRESSER. — J. Exp. Med. 1935, LXII, p. 297.
106. MALY. — Klin. Wochensch. 24 Oct. 1942, XLIII, p. 943.

107. MARTIN, VITTOZ, SUREAU et BOURCART. — Bull. Ac. Méd. 3 Novembre 1942.
108. MONTEIRO. — C. R. Soc. Biol. 1933, CXV, p. 1358.
109. MOOSER. — Journ. Infect. Diseases, 1928, XLIII, p. 240.
110. MOOSER, CASTANEDA et ZINSSER. — Journ. Ann. Méd. Asso. 1931, XCVII, p. 231.
111. MOSING. — Arch. I. P. Tunis 1936, XXV, p. 373.
112. MOSING. — Off. Intern. Hyg. Publ. 1938, XXX, p. 1715.
113. MURGATROY (F.). — Transactions of the the Royal Society of Tropical Medicine and hygiene. Juin 1940, XXXIV, n° 1.
114. NAGAYO, MATARO, TANIYA, MITAMURA, TOKUSHIRO et SATO. — C. R. Soc. Biol. 1930, CIV, p. 637. — Bull. Off. Intern. Hyg. Publ. 1931, XXIII, p. 1411.
NAGAYO, MIYAGAWA, MITAMURA, SAKO, HAZATO et IMAMURA. — Jap. Jl. Exp. Med. 1931, IX, p. 93.
115. NEMSCHILOV. — Klin. Wochenschr. 1934, LIX, p. 13.
116. NICOLLE (Ch.). — C. R. Ac. Sc. 1916, CLXIII, p. 38. — Arch. I. P. Tunis 1916, IX, p. 241.
117. NICOLLE. — Le destin des Maladies infectieuses. Alcan 1933, p. 211.
118. NICOLLE. — Revue d'Immunologie. 1935, I, p. 1.
119. NICOLLE et BLAIZOT. — C. R. Soc. Biol. 1915, LXXVIII, p. 717.
120. NICOLLE et BLAIZOT. — Arch. I. P. Tunis 1916, XXX, p. 446.
— C. R. Ac. Sc. 1916, CLXII, p. 525. — Bull. Ac. Méd. 1916, CXXVI, p. 95.
121. NICOLLE et CONSEIL. — C. R. Ac. Sc. 1910, CLI, p. 598. — C. R. Soc. Biol. 1920, LXXXIII, p. 991.
122. NICOLLE et CONSEIL. — C. R. Ac. Sc. 1925, CLXXXI, p. 201, — Arch. I. P. Tunis, 1925, XIV, p. 355.
123. NICOLLE et GIROUD. — Arch. I. P. Tunis, 1935, XXIV, p. 29.
124. NICOLE et LAIGRET. — Arch. I. P. Tunis, 1932-33, XXI, p. 251.
125. NICOLLE et LAIGRET. — Arch. I. P. Tunis, 1933, XXII, p. 36.
126. NICOLLE et LAIGRET. — C. R. Ac. Sc. 1935, CCI, p. 372.

127. NICOLLE et LAIGRET. — Arch. I. P. Tunis, 1936, XXV, p. 40.
128. NICOLLE et SPARROW. — Arch. I. P. Tunis, 1932, XXI, p. 25.
129. NICOLLE, SPARROW et CONSEIL. — C. R. Ac. Sc. 1927, CLXXIV, p. 859.
130. NIGG et LANDSTEINER. — Pr. Soc. exp. Biol. Méd. NY, 1930, XXIII, p. 3. — J. exp. Méd. 1932, LV, p. 563.
131. OKAMOTO. — Kisato Arch. 1937, XIV, p. 23 et 99.
132. OTTO. — Wiss. Wochensch. Frankfort A. M., 1935, III, p. 95.
133. OTTO et BICKHARDT. — Zeitschr. f. Hyg. 1942, CXXIII, p. 717.
134. OTTO et DIETRICH. — Deutsch. med. Wochensch. 1917, XXXIII, p. 577.
135. OTTO et WOHLRAE. — Fleckfiebergruppe, in Handbuch der Viruskrankheiten. Fischer, Iena, 1939.
136. PALACIOS, CHAVEZ et AVENDANO. — Rev. Inst. Bact. Chile, 1935, IV, p. 49.
137. PANTHIER. — Thèse Paris, 1939.
138. PARADAGAY, MIGUEL et VARELA. — Bol. inst. Hyg. Mexico in Zbl. f. Bakt. Réf. 1934, CXV, p. 437.
139. PARKER. — J. Infect. Dis, 1935, LVII, p. 78.
140. PARROT (G.). — Thèse Alger, 1937.
141. POLEFF, REIS et HERZIG. — Bull. Inst. Hyg. Maroc, 1938, I et II.
142. QUINTANA (Primitivo de la). — Zeitschr. f. Hyg. 25 Nov. 1942, CXXIII, p. 665.
143. RADLO. — Arch. I. P. Tunis, 1937, XXVI, p. 667.
144. RAMSINE. — Arch. I. P. Tunis, 1929, XVIII, p. 247.
145. RAYNAUD. — Essais de sérothérapie contre le typhus exanthématique, 1896, Zamith, Alger.
146. REITTLER, BTESH et MARBERG. — Trans. R. Soc. Med. Hyg. 1939, XXXIII, p. 197.
147. ROCHAIX et SARDA. — C. R. Soc. Biol. 1926, XCV, p. 841.
148. ROYER (J.). — L'immunisation contre le typhus exanthématique en Tunisie. Thèse Nancy, 1942.

149. SCHUTZ et MESSERSCHMIDT. — Klin. Wochensch. 29 Août 1942, XXXV, p. 772.
150. SERGENT (Ed.). — Arch. I. P. Alger, 1939, XVII, n° 4, p. 650.
151. SERGENT, PARROT (L.) et DONATIEN (A.). — Bull. Soc. Path. Exot. Janvier 1924, XVII, p. 37.
152. SPARROW (H.). — C. R. Soc. Biol. Paris, 1924, XCI, p. 1341.
153. SPARROW (H.). — C. R. Ac. Sc. 1935, CCI, p. 1524.
154. SPARROW (H.) et MARESCHAL. — Bull. Ac. Méd. Paris, 1938, CXIX, p. 140. — Revue Immunologie, 1939, V, p. 469.
156. STEUER. — Münch. Med. Wochensch. 9 Janvier 1942, II, p. 33.
157. STEUER. — Zeitschr. f. Immun. Forsch., CI, 25 Fév. 1942, p. 102.
158. SUAREZ, PALACIOS, CHAVEZ et SESNIC. — Revue Inst. Bact. Chile, 1935, V, p. 3.
159. TSUCHIYA et NOMURA. — J. of Orient Med. 1929, II, p. 142-152.
160. TZERKHNOWITZER et PALANT. — Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 1933, CXXIX, p. 69.
161. WAGNER. — Münch. Med. Wochensch. 1917, LXIV, p. 792.
162. WEIGL. — Z. f. Hyg. u. Infek. Krank., 1923, XCIX, p. 302.
163. WEIGL. — Bull. Intern. Acad. Pol. Sc. C. Méd. 1930, IV, p. 25.
164. WEIL, BREINL et GRUSCHKA. — Z. f. Immunitäts f. 1923, XXXVIII, p. 447.
165. WEIL et FÉLIX. — Wien Klin. Wochensch. 1916, XXIX, p. 33.
166. WOHLRAB. — Zbl. Bakt. Orig. 1937, CXL. Beiheft. 193.
167. ZIMMERMANN. — Zeitschr. f. Hyg. 1942, CXXIII, p. 552.
168. ZINSSER. — Arch. I. P. Tunis 1934, XXIII, p. 149.
169. ZINSSER. — Amer. J. Hyg. 1937, XXV, p. 430.
170. ZINSSER et CASTANEDA. — J. of Immunology 1931, XXI, p. 403.
171. ZINSSER et CASTANEDA. — J. exp. Med. 1933, LVII, p. 391. — et 1934, LIX, p. 471.
172. ZINSSER et CASTANEDA. — J. Exp. Méd. 1933, LVII, p. 381.
173. ZINSSER, PLOTZ et ENDERS. — Science 1940, XCI, p. 51.
174. ZINSSER, WEI et FITZPATRICK. — C. R. Soc. Biol. 1938, CXXVII, p. 229. — J. Exp. Méd. 1939, LXIX, p. 179.

